

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Bc. Pavel Dvořák

VOLTAMETRIE S PŘEDŘAZENOU EXTRAKCÍ JAKO NOVÝ
PŘÍSTUP PRO RYCHLÉ STANOVENÍ FORMALDEHYDU
V DŘEVĚNÝCH VÝROBCÍCH

Voltammetry with Preliminary Extraction as a New Approach for
Rapid Determination of Formaldehyde in Wood-Based Products

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: doc. RNDr. Vlastimil Vyskočil, Ph.D.

Praha 2020

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 15. června 2020

Tato diplomová práce byla vypracována v rámci Specifického vysokoškolského výzkumu (projekt SVV260560) a finančně podpořena Grantovou agenturou České republiky (projekt GAČR 20-01589S).

Poděkování

V úvodu své práce bych rád poděkoval svému školiteli doc. RNDr. Vlastimilu Vyskočilovi, Ph.D. za odborné vedení práce, cenné připomínky a trpělivost.

Mé poděkování také patří mým rodičům a přátelům za podporu, motivaci a veškerou pomoc při mém studiu na vysoké škole.

Klíčová slova

Elektrochemie

Square-wave voltametrie

Mikroextrakce z difundujícího plynu

Formaldehyd

Sítotisková uhlíková elektroda

Key words

Electrochemistry

Square-Wave Voltametry

Gas-Diffusion Microextraction

Formaldehyde

Screen-Printed Carbon Electrode

Abstrakt

Předmětem předkládané diplomové práce byl vývoj nové metody pro nepřímé stanovení formaldehydu v dřevěných výrobcích pomocí mikroextrakce z difundujícího plynu s následnou elektrochemickou detekcí na nemodifikovaných sítotiskových uhlíkových elektrodách (MLEM-SPCE). Formaldehyd uvolněný ze vzorku je derivatizován pomocí acetylacetonu přítomného v akceptačním roztoku. Produkt derivatizace formaldehydu s acetylacetone – 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin (DDL) – poskytuje selektivní oxidační voltametrický pík při potenciálu 0,4 V. Bylo dosaženo limitů detekce a kvantifikace $0,57 \text{ mg kg}^{-1}$ a $1,89 \text{ mg g}^{-1}$, společně s denní a mezidenní přesností pod 10 % (vyjádřené relativní směrodatnou odchylkou, *RSD*). Vyvinutá metoda byla použita pro stanovení obsahu formaldehydu v sedmi vzorcích dřevěných výrobků. Podobných výsledků bylo dosaženo také pomocí evropské normy EN 717-3 s významným zkrácením celkového času analýzy.

Vyvinutá metoda MLEM-SPCE, která kombinuje extrakční proces pro těkavé analyty společně s prvním popsáním elektrochemickým stanovením formaldehydu (jako derivatizačního produktu DDL) na nemodifikovaných sítotiskových uhlíkových elektrodách, se ukazuje jako slibná alternativa pro rychlá stanovení obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích, ale i jiných vzorcích.

Abstract

The aim of the presented Diploma Thesis was to develop a new method for the indirect determination of formaldehyde in wood-based products using gas-diffusion microextraction coupled with electrochemical detection on unmodified screen-printed electrodes (MLEM-SPCE). Formaldehyde released from the sample is derivatized using an acetylacetone reagent present in an acceptor solution. The product of derivatization of formaldehyde with acetylacetone is 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidine (DDL) which forms a selective oxidation voltammetric peak at a potential of 0.4 V. Detection and quantification limits of 0.57 mg kg^{-1} and 1.89 mg kg^{-1} , respectively, were obtained, together with intra- and inter-day precision below 10% (as relative standard deviation, *RSD*). The developed methodology was applied to determine formaldehyde content in seven samples. Similar results were obtained from the European standard method EN 717-3 with a significant reduction of total analysis time.

The developed method MLEM-SPCE, which combines the use of a new sample preparation procedure for volatile compounds with the firstly introduced determination of formaldehyde (as the derivative product DDL) on unmodified SPCEs, proves to be a promising alternative for the determination of formaldehyde in wood-based products and other samples.

Obsah

Seznam zkratk	8
1 Cíl práce	9
2 Teoretická část.....	10
2.1 Formaldehyd.....	10
2.1.1 Metabolismus formaldehydu v živých organismech.....	11
2.1.2 Způsoby stanovení formaldehydu	12
2.2 Mikroextrakce z difundujícího plynu	22
2.2.1 Využití mikroextrakce z difundujícího plynu	23
2.2.2 Bezmembránový extrakční modul	25
3 Experimentální část	27
3.1 Reagencie	27
3.2 Instrumentace	27
4 Výsledky a diskuze.....	28
4.1 Vývoj elektrochemické metody pro stanovení DDL.....	28
4.2 Procedura extrakce	32
4.3 Kalibrační závislost	33
4.4 Validační parametry metody	35
4.5 Stanovení obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích	35
4.6 Porovnání s metodou EN 717-3	37
5 Závěr.....	39
Literatura	41

Seznam zkratk

2,4-DNPH	2,4-dinitrofenylhydrazin
ADH	alkoholdehydrogenasa
AR	akceptační roztok
DAD	detektor s diodovým polem
DDL	3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin
DPV	diferenční pulzní voltametrie
GDME	mikroextrakce z difundujícího plynu
<i>LOD</i>	limit detekce
<i>LOQ</i>	limit kvantifikace
m-AgSAE	rtuťovým meniskem modifikovaná stříbrná pevná amalgámová elektroda
MLEM	bezmembránový extrakční modul
MLEM-SPCE	metoda stanovení formaldehydu pomocí bezmembránového extrakčního modulu s následnou elektrochemickou detekcí
MOS	polovodiče z oxidů kovů
<i>RSD</i>	relativní směrodatná odchylka
SBS	syndrom nemocných budov
SPCE	sítotisková uhlíková elektroda
SPME	mikroextrakce na pevné fázi
SSAO	semikarbazid-senzitivní aminoroxidasa
SWV	square-wave voltametrie

1 Cíl práce

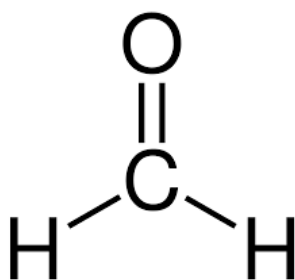
Cílem předkládané diplomové práce je vývoj voltametrické metody pro nepřímé stanovení formaldehydu v dřevěných výrobcích pomocí mikroextrakce z difundujícího plynu s následnou elektrochemickou detekcí na sítotiskových uhlíkových elektrodách.

Ve vhodném derivatizačním činidlu byla vyvinuta metoda pro stanovení produktu derivatizace formaldehydu s acetylacetone – 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidinu (DDL). Poté byla vytvořená metoda aplikována na stanovení obsahu formaldehydu v reálných vzorcích – dřevěných výrobcích.

2 Teoretická část

2.1 Formaldehyd

Je nejjednodušší aldehyd (jeho strukturní vzorec je uveden na obr. 1). Jde o bezbarvý, štiplavě zapáchající plyn. Patří mezi těkavé organické látky. Má prokázaný negativní vliv na lidské zdraví [1]. Jedná se o nespecifické účinky v oblasti očí a horních cest dýchacích – zejména o pálení očí a sliznic, dráždění horních dýchacích cest a alergické reakce, které mohou vést až k edému plic s následnou smrtí postiženého jedince. Formaldehyd způsobuje tzv. syndrom nemocných budov (SBS) [2], který se projevuje výše zmíněnými příznaky, tj. pálení očí a

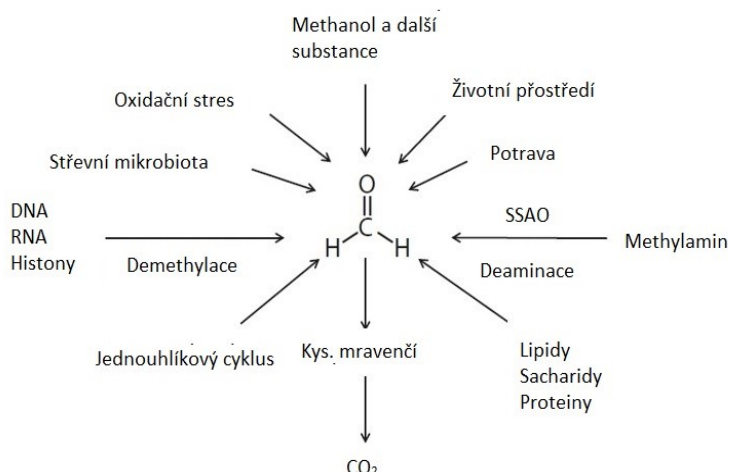


Obrázek 1. Strukturní vzorec formaldehydu.

sliznic v nosu či ústech, bolestí hlavy či sníženou schopností koncentrace vázané na pobyt v uzavřených prostorách, kde se objevují vyšší koncentrace formaldehydu a dalších obdobně působících látek. Nejčastěji jsou součástí lepidel, laků či interiérových barev. Dle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) se jedná o prokázaný lidský karcinogen (řazen do skupiny 1) [3]. Celosvětová roční produkce formaldehydu se pohybuje okolo 21 milionů tun [4]. Mezi jeho hlavní využití patří výroba hnojiv, papíru a zejména močovinoformaldehydových pryskyřic, které se následně používají jako lepidla pro překližky a dřevotřískové desky, koberce či pěnové izolace. Nachází využití též v textilním a kosmetickém průmyslu. Jeho vodný roztok se také užívá jako dezinfekční a konzervační prostředek. Vzhledem k jeho užití při výrobě dřevotřískových desek se formaldehyd uvolňuje z nábytku, a přispívá tak ke kontaminaci ve vnitřním prostředí budov. Formaldehyd hraje také roli při znečištění vnějšího prostředí. Vzniká při nedokonalém spalování fosilních paliv a je součástí tabákového dýmu [1–4].

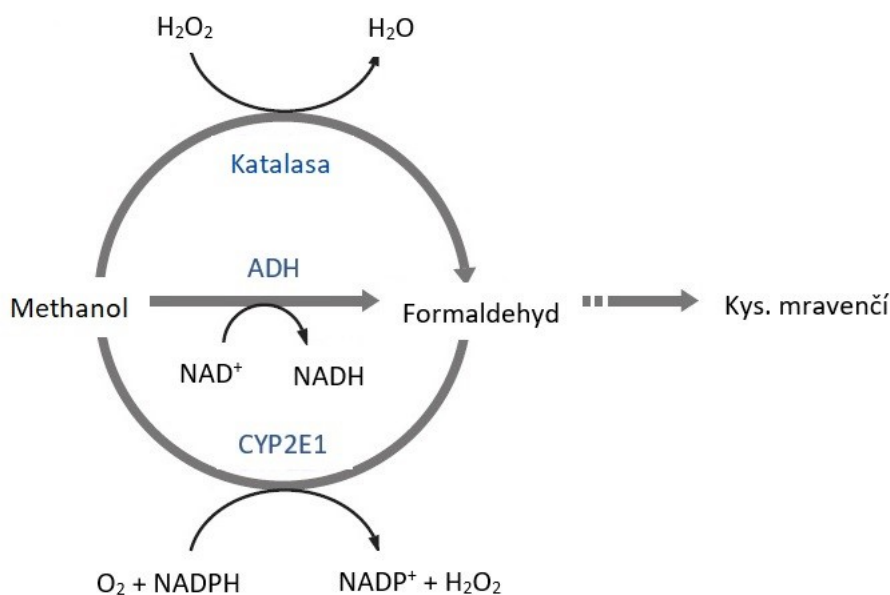
2.1.1 Metabolismus formaldehydu v živých organismech

Do dýchacího systému jedince se formaldehyd dostává skrze znečištěný vzduch. Zdrojem znečištění mohou být výfukové plyny, izolace, adheziva z dřevotřískových materiálů, ale i uhelné elektrárny či velké továrenské provozy [5]. Ilustrační schéma metabolismu formaldehydu je uvedeno na obr. 2. Formaldehyd se v těle vyskytuje také díky metabolické přeměně z methanolu [6], který se obvykle do organismu dostává z potravy, zejména z ovoce, zeleniny, ale i alkoholických nápojů. Po absorpci z trávicího traktu je přijatý methanol oxidován pomocí alkoholdehydrogenasy (ADH) na formaldehyd. Schéma této reakce je znázorněno na obr. 3.



Obrázek 2. Schéma metabolismu formaldehydu v živých organismech. Převzato a upraveno z [5].

Formaldehyd je poté oxidativní biotransformací přeměněn na mravenčí kyselinu, která se v těle hromadí, a může tak způsobit metabolickou acidosu [7]. Mravenčí kyselina je také známá jako selektivní jed pro sítnici, a právě zde se také v těle hromadí. Kyselina mravenčí se dále oxiduje na oxid uhličitý, který je poté z těla vyloučen.



Obrázek 3. Reakční schéma oxidace methanolu pomocí ADH. Převzato a upraveno z [6].

2.1.2 Způsoby stanovení formaldehydu

2.1.2.1 Oficiální evropské normy pro stanovení formaldehydu v dřevěných výrobcích

Stanovením obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích se zabývají následující evropské normy: EN 717-1 [8], EN 717-2 [9], EN 717-3 [10] a EN 120 [11]. Hlavní nevýhodou je jejich nehomogenita. Norma EN 717-1 popisuje stanovení emise formaldehydu uvolněného do okolního prostředí při pokojové teplotě. Zato normy EN 717-2 a EN 717-3 se zabývají stanovením formaldehydu uvolněného z dřevěného výrobku za zvýšené teploty a norma EN 120 uvádí stanovení celkového obsahu formaldehydu ve vzorku. Výsledné hodnoty obsahu tak nekorelují mezi sebou při analýze stejného vzorku různými oficiálními metodami, ale také dle [12,13] nejsou dobře mezilaboratorně reprodukovatelné.

Metoda EN 717-1

Metoda EN 717-1 je též nazývaná komorová metoda. Vzorek je umístěn do komory (zobrazené na obr. 4) o definovaném objemu, běžně 1 m^3 , ale objem se může měnit i do výše desítek metrů krychlových. Teplota je udržována při $23 \text{ }^\circ\text{C}$ a relativní vlhkost při 45 %. Vzduch v komoře je vyměněn každou hodinu. Formaldehyd uvolněný ze vzorku je smísen se vzduchem v komoře a deklarovaný objem vzduchu se odebírá dvakrát denně do promývaček obsahujících vodu, ve které probíhá následné spektrofotometrické stanovení. Toto vzorkování trvá běžně i několik

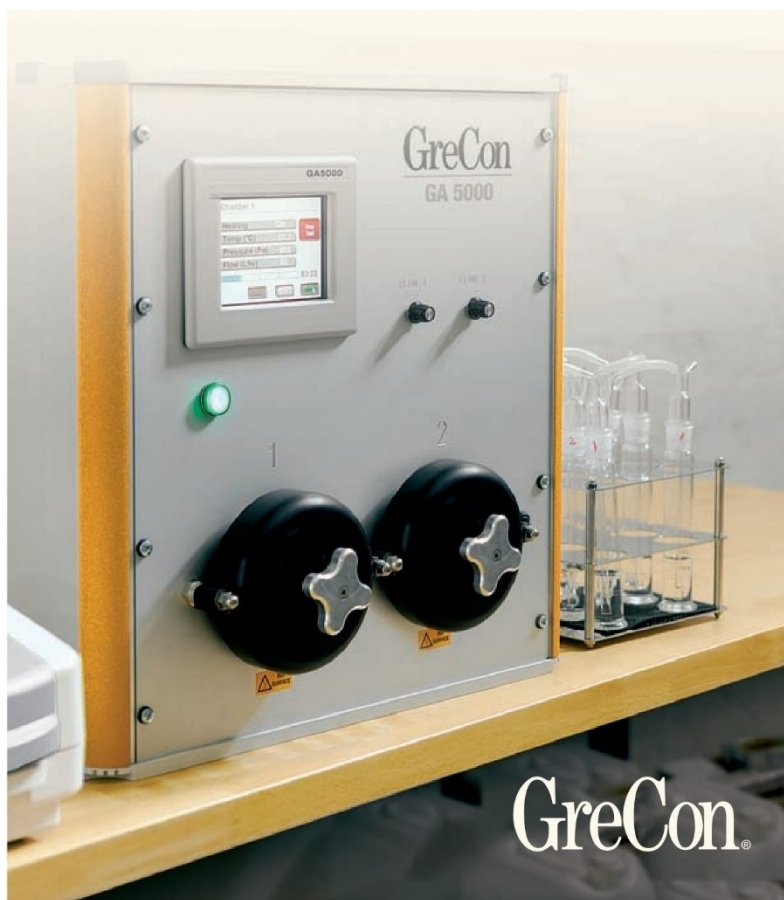
týdnů a výsledky se uvádí v celkovém množství emitovaného formaldehydu v jednotkách mg m^{-3} či ppm (ml m^{-3}).



Obrázek 4. Testovací komora pro stanovení obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích dle metody EN 717-1 [14].

Metoda EN 717-2

Tato metoda, zvaná též metoda analýzy plynu, popisuje stanovení formaldehydu uvolněného při vyšší teplotě. Vzorek o známé ploše je umístěn do komory (zobrazené na obr. 5) s kontrolovaným vnitřním prostředím, které se liší od běžných pokojových podmínek – teplota $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, nízká relativní vlhkost ($\leq 3\text{ }\%$) a častá výměna vzduchu v komoře ($15\times$ za hodinu). Vzduch z komory prochází promývačkami s vodou, ve které probíhá následné spektrofotometrické stanovení. Tento druh analýzy je finančně náročný zejména kvůli pořizovací ceně speciálního analyzátoru.



Obrázek 5. Testovací komora pro stanovení obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích dle metody EN 717-2 [15].

Metoda EN 717-3

Tato metoda se nazývá lahvová metoda. Extrakční aparatura je ukázána na obr. 6. Metoda spočívá v umístění vzorku o známé hmotnosti nad hladinu vody v uzavřené lahvi, která je umístěna do termostatu o konstantní teplotě 40 °C po dobu 3 hodin. Formaldehyd se uvolňuje do vody, ve které poté probíhá následné spektrofotometrické stanovení.



Obrázek 6. Lahev určená pro extrakci formaldehydu z dřevěných výrobků pomocí metody EN 717-3 [16].

Metoda EN 120

Příklad extrakční aparatury pro tuto metodu (jinak označovanou také jako perforátorová metoda) je uveden na obr. 7. Jako jediná stanovuje celkový obsah formaldehydu ve vzorcích. Formaldehyd je extrahován vroucím toluenem a je poté kvantitativně převeden do vody, ve které probíhá jeho spektrofotometrické stanovení. Výsledek se vyjadřuje v hmotnosti formaldehydu na 100 g suchého vzorku, poté je provedena korekce na 6,5% obsah vody ve vzorku. Velice zde záleží na druhu materiálu, hustotě částic, porositě a obsahu vody ve vzorku, a proto výsledky mezi sebou velmi často nekorelují. Vzhledem k užití vroucího toluenu je dnes pro ochranu pracovníků provádějících stanovení dávána přednost jiným metodám.



Obrázek 7. Perforátor určený pro extrakci formaldehydu z dřevěných výrobků dle metody EN 120 [17].

2.1.2.2 Elektrochemické stanovení formaldehydu

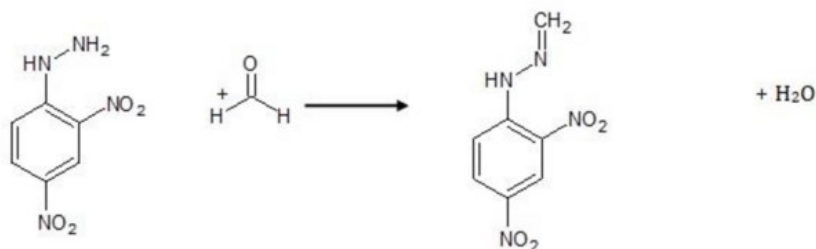
Přímé elektrochemické stanovení formaldehydu

Formaldehyd, stejně jako ostatní jednodušší aldehydy, lze elektrochemicky stanovit přímo. Vzhledem k velmi nízkým hodnotám potenciálu redukce (okolo $-1,7\text{ V}$) je jako pracovní elektroda první volby většinou vybrána rtuťová kapající elektroda nebo visící rtuťová kapková elektroda [18,19]. Je zde možno užít polarografie/voltametrie s lineárním nárůstem potenciálu, ale také diferenční pulzní polarografie/voltametrie. Vlastní stanovení probíhá ve velmi alkalickém prostředí (přibližně pH 12) a poskytuje výsledky s velkou přesností. S ohledem na ekotoxicitu rtuti jde dnes o stanovení minoritně využívané.

Oxidovat formaldehyd (potenciál oxidace je okolo -100 mV) lze jak na rtuťové kapkové elektrodě [20] v alkalickém prostředí NaOH o koncentraci 3 mol l^{-1} , kde stanovení vykazuje velkou přesnost, avšak malý lineární dynamický rozsah, který se pohybuje mezi $2 \cdot 10^{-4}$ a $4 \cdot 10^{-3}\text{ mol l}^{-1}$, tak i na nertuťových materiálech. Elektrochemická oxidace formaldehydu byla studována na stříbrné a zlaté rotující diskové elektrodě [21] a na zlaté a platinové rotující diskové elektrodě [22].

Nepřímé elektrochemické stanovení formaldehydu

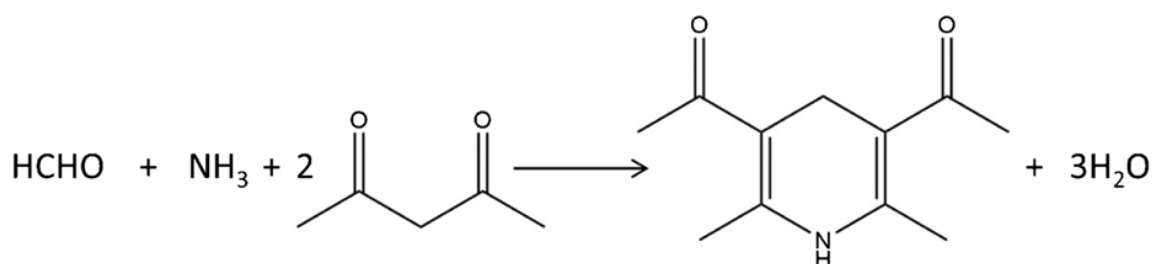
Vzhledem k vysokým hodnotám potenciálů přímé oxidace (z hlediska rtuťových elektrod) i redukce je volba pracovních elektrod pro elektrochemické stanovení formaldehydu velice omezena. Proto se přistupuje k derivatizačním reakcím, jejichž produkt je elektrochemicky aktivní a lze jej detegovat při nižších potenciálech. Prvním možným derivatizačním činidlem je 2,4-dinitrofenylhydrazin (2,4-DNPH). Tato reakce není selektivní, a tudíž umožňuje stanovení více aldehydických sloučenin. Reakce probíhá dle schématu na obr. 8. Karbonylová sloučenina



Obrázek 8. Schéma reakce 2,4-DNPH s formaldehydem za vzniku hydrazinového derivátu. Převzato z [26].

reaguje s 2,4-DNPH za vzniku hydrazinového derivátu, který je elektrochemicky detegovatelný. Při stanovení lze využít jak rtuťových, tak i tuhých elektrod (např. elektrody ze skelného uhlíku). Tato možnost nepřímého stanovení byla využita v reálných vzorcích pitné vody, potravin, kosmetických výrobků, palivového ethanolu či vzduchu [23–25].

Druhým derivatizačním činidlem vhodným k nepřímé elektrochemické detekci formaldehydu je acetylaceton [27]. Tato Hantzschova reakce [28] je selektivní vůči formaldehydu, a proto při samotném stanovení nedochází k problémům s interferujícími látkami. Schéma reakce je uvedeno na obr. 9. Acetylaceton reaguje v prostředí amonných iontů



Obrázek 9. Schéma reakce acetylacetonu s formaldehydem za vzniku 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidinu (DDL). Převzato z [29].

s formaldehydem za vzniku barevného 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidinu (DDL), který lze elektrochemicky detegovat. Běžné je i užití spektrofotometrické detekce. Absorpční maximum

DDL je 412 nm. Ke stanovení byla použita elektroda ze skelného uhlíku a bylo dosaženo limitu detekce $0,13 \text{ mg l}^{-1}$, lineární dynamický rozsah této metody je $0,4\text{--}40 \text{ mg l}^{-1}$, s relativní směrodatnou odchylkou 0,7 %.

Ostaní možnosti stanovení formaldehydu

Další z možností pro stanovení formaldehydu jsou chromatografické metody. Fung a Grosjean [30] popsali stanovení karbonylových sloučenin pomocí HPLC s UV detekcí. Pomocí derivatizační reakce s 2,4-DNPH byly karbonylové sloučeniny převedeny na hydrazonové sloučeniny, poté pomocí HPLC separovány a při 360 nm detegovány pomocí UV detektoru. Doba jedné analýzy pro 7 jednodušších karbonylových sloučenin činí 10 min a pro formaldehyd bylo dosaženo limitu kvantifikace (LOQ) $1,8 \cdot 10^{-4} \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$. Tato metoda je vhodná pro analýzu jak plyných, tak i kapalných vzorků.

Druhou chromatografickou metodou vhodnou pro stanovení formaldehydu a nižších karbonylových sloučenin je plynová chromatografie (GC). Ho a Yu [31] vytvořili metodiku spočívající v zachycení karbonylových sloučenin z plyných vzorků na sorpční trubičky obsahující pentafluorofenylhydrazin. Ze sorpčních trubiček je poté analyt tepelně desorbován a veden do plynového chromatografu s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Tento přístup umožňuje lepší dělení analytů, ale dosahuje i výrazně nižších limitů stanovení karbonylových sloučenin. Při srovnání s [30] jde o snížení $2\times\text{--}12\times$. Další možností je využití prekoncentračního kroku s následnou analýzou na GC [32]. Je zde popsáno využití mikroextrakce na tuhé fázi (SPME) s následnou tepelnou desorpcí do plynového chromatografu, který je vybaven trojitou sériovou detekcí. První detektor je fotoionizační, druhý plamenně-ionizační a posledním detektorem je detektor vodivosti suchého elektrolytu. Tento systém umožňuje stanovit i např. halogenované látky vedle jednoduchých karbonylových sloučenin s vysokou úsporou času. Proces vzorkování spojený s analýzou trvá pouhých 12 minut. Tato práce byla vypracována na přenosném chromatografu, takže tento postup lze užít i pro stanovení *in situ*.

Formaldehyd lze stanovit i pomocí kapilární elektroforézy [33]. Za běžných podmínek je formaldehyd nenabitý, a proto má nulovou elektroforetickou mobilitu. Také ve své struktuře neobsahuje chromofor, tudíž nelze využít UV-VIS detekci. Opět se přistoupilo k derivatizaci, a to s 2-thiobarbiturovou kyselinou, a byla využita elektrochemická detekce. Jako pracovní elektroda byla použita uhlíková disková elektroda, jako referentní nasycená kalomelová elektroda a jako pomocná platinový drátek. Tato metoda byla využita při stanovení formaldehydu v reálných potravinových vzorcích a bylo dosaženo limitu detekce $9 \cdot 10^{-9} \text{ g ml}^{-1}$.

Ke stanovení lze využít i techniky průtokové injekční analýzy. Herschkovitz [34] popsal

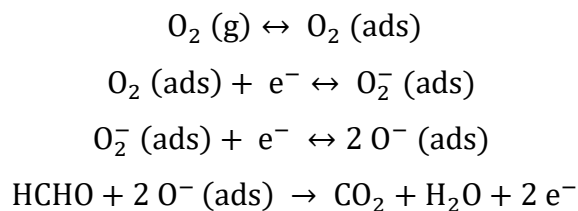
tuto metodu s elektrochemickou detekcí. V detekční cele, která se skládá z následujících dvou komponent: sítotiskové uhlíkové elektrody modifikované Os(bpy)-poly(vinylpyridinem) a membránou, na které je imobilizován enzym formaldehyddehydrogenasa, dosáhl velmi nízkých detekčních limitů a také vysoké selektivity, reprodukovatelnosti a rychlosti stanovení. Detekce spočívá v oxidaci NADH^+ , který vzniká díky enzymové reakci, když je ve vzorku přítomen formaldehyd. Metoda poskytuje lineární odezvu v rozmezí $30 \text{ ng ml}^{-1} - 1,5 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$ a membránu s imobilizovaným enzymem lze používat po dobu 7 dnů při uchovávání při teplotě 4°C .

Fluorimetrické stanovení formaldehydu [35] je opět založeno na Hatzschově reakci, kdy se cyklizuje formaldehyd s acetylacetonelem v přítomnosti amonných iontů na DDL. Vzniklé molekuly DDL jsou excitovány zářením o vlnové délce 254 nm . K záchytu plynného formaldehydu je používán skleněný spirálovitý absorbér (jedná se o spirálu s 28 závitů, jejichž vnitřní průměr je 3 mm , rychlost průtoku vzduchu je 2 l min^{-1} a absorpční kapaliny $0,7 \text{ ml min}^{-1}$), uvnitř kterého absorpční kapalina stéká souprůdně s analyzovaným vzduchem. Absorpční kapalinou je $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ kyselina sírová. Za těchto podmínek lze zachytit formaldehyd ze 100 %. Vzhledem k selektivitě derivatizační reakce nedochází k interferencím a mez detekce je uvedena jako $0,25 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$. Tato metoda umožňuje citlivé stanovení formaldehydu v reálném čase.

Přímé stanovení formaldehydu umožňuje infračervená spektroskopie s využitím Fourierovy transformace (FTIR) [36]. V případě této techniky prochází paprsek infračerveného záření skrze detekční celu, ve které se nachází analyzovaný vzduch. Optická dráha paprsku činí 2 km a je realizována pomocí mnohonásobného odrazu uvnitř cely. Samotný formaldehyd je detegován při 2779 a $2781,6 \text{ cm}^{-1}$. Mez detekce této metody je $5 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$.

Stanovení formaldehydu v posledních 10 letech

Naprosto dominantním detekčním nástrojem vyvíjeným pro stanovení formaldehydu v posledních 10 letech jsou polovodičové senzory na bázi oxidů kovů (MOS) [37–42]. Jsou populární zejména proto, že jsou vysoce selektivní, jednoduché na laboratorní přípravu i obsluhu a jejich výroba je velmi levná. Jako materiály pro přípravu těchto senzorů se nejčastěji používají TiO_2 , ZnO , SnO_2 , In_2O_3 nebo WO_3 . Mechanismus detekce těchto senzorů lze popsat následovně. Po expozici senzoru analytem v plynné fázi proběhne oxidačně-redukční reakce mezi analyzovaným plynem a povrchem senzoru, což vede ke změně odporových vlastností vlastního senzoru. Tento mechanismus lze popsat následujícími rovnicemi:



Tyto senzory lze využít k monitorování dalších plynných polutantů, jako např. NO₂, NH₃, SO₂, H₂S či CH₄. Aby byla zaručena co nejvyšší efektivita těchto senzorů, je nutno je připravit tak, aby bylo dosaženo co nejvyššího specifického povrchu. Ten je v průběhu přípravy kontrolován a charakterizován pomocí následujících technik: Ramanova spektroskopie, elektronová mikroskopie či infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací. Vzhledem k tomu, že pracovní teplota těchto senzorů dosahuje často i 300 °C, což může vést k potenciálním rizikům v pracovním prostředí, je snahou v průběhu posledních let snížení pracovní teploty senzorů. V roce 2017 byla běžná pracovní teplota senzoru pro stanovení formaldehydu okolo 230 °C [43], v roce 2019 je to již pouze 120 °C [37]. Další snahou je co nejjednodušší, ideálně jednokroková příprava senzoru z dostupných surovin s co největší pracovní plochou a samozřejmě také s co nejlepšími analytickými vlastnostmi celého systému – citlivost, selektivita, nízké hodnoty šumu, co nejširší lineární dynamický rozsah a nízké limity detekce. Shrnutí obsahující popsané limity detekce (*LOD*) a čas odezvy připravených senzorů v posledních 10 letech je uvedeno v tab. 1.

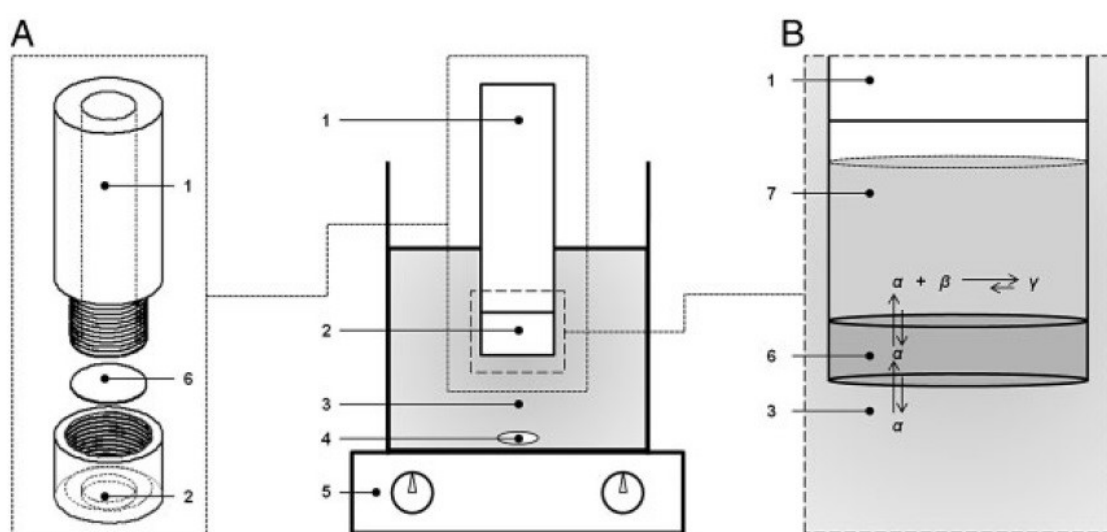
Tabulka 1. Porovnání času odezvy a limitu detekce (*LOD*) senzorů pro stanovení formaldehydu v posledních 10 letech.

Druh senzoru	Čas odezvy	<i>LOD</i> (mol l ⁻¹)	Cit.
Derivát pillar[5]arenu	7,5 s	$3,27 \cdot 10^{-9}$	[39]
Fluorescenční sonda	30 min	$7,1 \cdot 10^{-7}$	[44]
Molekulární systém	-	$1 \cdot 10^{-4}$	[45]
Uhlíkové nanotrubičky obohacené tetrafluorohydrochinonem	39 s	$5 \cdot 10^{-6}$	[46]
Vertikální grafen obohacený SnO ₂ nanočásticemi	46 s	$6,67 \cdot 10^{-7}$	[47]
Fluorescenční sonda	-	$7,7 \cdot 10^{-7}$	[48]
Fluorescenční sonda	-	$3 \cdot 10^{-6}$	[49]
Grafen obohacený o SnO	24 s	$3,3 \cdot 10^{-8}$	[50]
Fluorescenční sonda	-	$7,8 \cdot 10^{-7}$	[51]
Fluorescenční sonda	-	$2 \cdot 10^{-7}$	[52]
Křemíkové nanočástice obohacené thiolovými skupinami	-	$1,2 \cdot 10^{-6}$	[53]
Senzor na bázi ZnCo ₂ O ₄	<15 s	$1 \cdot 10^{-7}$	[54]
Senzor na bázi oxidů Ga _x In _{2-x} O ₃	<15 s	$6,67 \cdot 10^{-6}$	[55]
Fluorescenční sonda	3 h	$1 \cdot 10^{-5}$	[56]

2.2 Mikroextrakce z difundujícího plynu

Mikroextrakce z difundujícího plynu (z angl. gas-diffusion microextraction, GDME) je nová extrakční technika, kterou poprvé popsali Pecheco a spol. [57] v roce 2010. Jde o techniku, která je vhodná pro těkavé a polotěkavé analyty v různých matricích. Tento druh extrakce, jak již z názvu vyplývá, kombinuje prvky plynové difúze a mikroextrakce. Plynová difúze [58] umožňuje analytu v plynné fázi procházet skrze hydrofobní membránu, která odděluje prostor pro vzorek a prostor pro akceptační roztok (AR). Mikroextrakce [59] je extrakční technika, při které je objem extrahovaného vzorku mnohonásobně větší nežli objem finálního extraktu.

Principem této extrakční techniky (schéma extrakční aparatury je uvedeno na obr. 10)



Obrázek 10. Schéma extrakční aparatury GDME. (A) Vlastní extrakční modul, (B) detailní znázornění chemických reakcí v průběhu extrakce. 1 – Vrchní díl extrakčního modulu, 2 – šroubovací uzávěr extrakčního modulu, 3 – roztok vzorku, 4 – magnetické míchaadlo, 5 – magnetická míchačka zároveň sloužící k zahřívání roztoku vzorku, 6 – hydrofobní membrána, 7 – akceptační roztok, α – analyt, β – derivatizační činidlo, γ – produkt derivatizační reakce. Převzato z [57].

je zahřívání vzorku, ze kterého se uvolní těkavý analyt, který prochází skrze hydrofobní membránu propustnou pouze pro plyny do AR, ve kterém poté probíhá samotné stanovení. Je vhodné kombinovat GDME s přímou derivatizací analytu v AR [60], protože poté dochází nejen k získání vyšších výtěžků extrakce, ale také k zjednodušení detekce a identifikace extrahovaných látek. Tato extrakční technika je vhodná pro vzorky v kapalně i pevně fázi a umožňuje nový přístup předúpravy vzorku před analýzou, která významně snižuje spotřebu chemikálií, není instrumentálně náročná a také snižuje celkový čas analýzy.

2.2.1 Využití mikroextrakce z difundujícího plynu

Využití GDME ke kontrole kvality potravin

Asi největšího využití této extrakční techniky bylo zatím dosaženo v analýze potravin. Pro stanovení obsahu siřičitanů v různých alkoholických nápojích byla vytvořena metodologie zahrnující prekoncentrační krok s GDME [61,62]. Následná elektrochemická detekce probíhala pomocí square-wave voltametrie (SWV) na sítotiskových uhlíkových elektrodách (SPCE) a výsledky byly srovnatelné s oficiální metodou pro stanovení siřičitanů v alkoholických nápojích (Ripperova metoda – jodometrická titrace [63]).

Dalším parametrem fermentovaných nápojů, který lze sledovat s využitím GDME, je obsah alifatických aminů. V práci [64] byla vytvořena metoda pro stanovení tří těkavých alifatických aminů (methylamin, dimethylamin a ethylamin) pomocí GDME s následnou detekcí pomocí HPLC s UV detekcí. Zde byla využita předkolonová derivatizace s fenylisothiokyanátem. Aminy byly stanoveny ve vzorcích piva a vína. Oproti existujícím metodám tato metoda výrazně ulehčuje předúpravu vzorku před analýzou.

Důležitou složkou zodpovědnou za chuť a aroma nápojů a mléčných výrobků je diacetyl [65]. Stanovení volného a celkového diacetylu ve víně pomocí GDME s následnou detekcí pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV detekcí bylo popsáno v [66]. Při stanovení diacetylu lze po prekoncentračním kroku využít i elektroanalytickou detekci [67]. Probíhá na rtuťovém meniskem modifikované stříbrné pevné amalgámové elektrodě (m-AgSAE) pomocí diferenční pulzní voltametrie (DPV). Analyt je v extrakčním kroku potřeba derivatizovat pomocí 2,3-dimethylchinoxalinu, aby byla umožněna elektroanalytická detekce. Dosažený limit kvantifikace ($0,18 \mu\text{g l}^{-1}$) patří k nejnižším popsaným v literatuře. Diacetyl byl extrahován společně s dalšími α -dikarboxylovými sloučeninami (methylglyoxal a pentan-2,3-dion) ze vzorků portského vína, černého čaje a sójové omáčky a následně stanoven pomocí HPLC [68]. Kromě snížení celkového času analýzy a zjednodušení prekoncentračního kroku tento přístup nevyžaduje chemickou derivatizaci uvedených analytů. Ve vzorcích chleba byly s využitím podobné metodiky po extrakci stanoveny podobné α -diketonové látky (diacetyl, pentan-2,3-dion a hexan-2,3-dion) [69]. Také zde byla využita HPLC-UV detekce. V této práci byl do AR přidán *o*-fenylendiamin pro zvýšení selektivity v průběhu extrakce. Při srovnání s [68] bylo dosaženo násobně nižších limitů detekce i kvantifikace.

GDME lze také využít při stanovení aldehydů. Zejména acetaldehyd je zodpovědný za nechtěnou chuť a zápach potravin či nápojů [70]. Lima a další [71] popsali metodu stanovení aldehydů pomocí HPLC-UV a kapilární elektroforézy s DAD detekcí. AR obsahuje

4-hydrazinobenzoovou kyselinu, jež tvoří s aldehydovými sloučeninami barevný produkt, který umožňuje spektrofotometrickou detekci. Limit kvantifikace této metody činí $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ pro acetaldehyd. Užitím jiného derivatizačního činidla – 2,4 DNPH – byl stanoven volný a vázaný acetaldehyd ve vzorcích různých vín [72]. Ostatní karbonylové sloučeniny, nacházející se ve vzorcích, byly v této práci charakterizovány pomocí tandemové hmotností spektroskopie.

Práce [73] popisuje stanovení malondialdehydu jakožto markeru lipidové peroxidace v potravinách. AR obsahoval thiobarbiturovou kyselinu, která převáděla analyt na sloučeninu, u níž byla možná spektrofotometrická detekce. Extrakt byl následně analyzován pomocí HPLC s UV a fluorescenční detekcí. Malondialdehyd byl stanoven v 54 vzorcích potravinářských olejů.

Že GDME plynu nemusí být použita pouze ke stanovení těkavých látek, ale i k jejich charakterizaci, je popsáno v práci [74]. Ve vzorcích kávy, pražené i zelené, arabiky i robusty bylo po extrakci a následné separaci pomocí HPLC s DAD a tandemově hmotnostní detekcí popsáno 27 karbonylových sloučenin. Jejich vliv na lidské zdraví, roli ve zpracovatelském procesu či samotnou chuť a kvalitu kávy je zde diskutován.

Využití GDME ke kontrole kvality v průmyslu

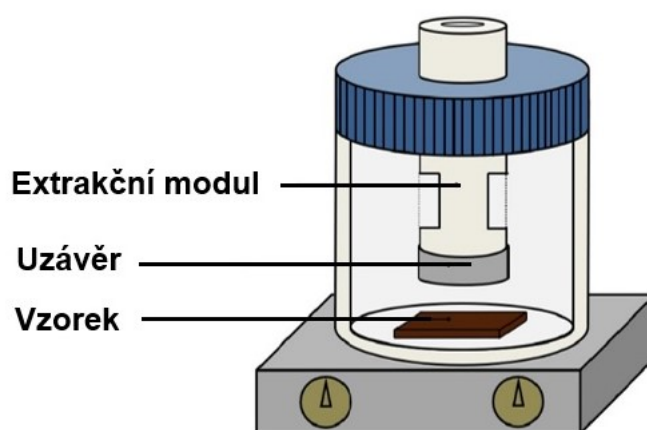
Jednou z možných oblastí průmyslu, kde lze ke kontrole kvality využít GDME, je bezpochyby zpracování dřeva. Formaldehyd je běžnou součástí močovinoformaldehydových pryskyřic, které se využívají k výrobě dřevotřískových desek či korkových produktů. Stanovení jeho obsahu v korkových výrobcích s využitím GDME je popsána v práci [75]. K derivatizaci analytu bylo využito derivatizační reakce s acetylacetone. K detekci byla užita spektrofotometrie při 412 nm. Bylo dosaženo limitu kvantifikace o hodnotě $0,47 \text{ mg kg}^{-1}$. Ve stejné matrici byly charakterizovány i další karbonylové sloučeniny. Po extrakci spojené s derivatizací pomocí 2,4-DNPH byly sloučeniny separovány na HPLC a popsány díky tandemové hmotnostní spektrometrii [76]. Celkově tak bylo popsáno 13 aldehydových a 4 ketonových sloučenin vyskytujících se v korkových výrobcích.

Druhou oblastí průmyslu, kde je možné využít GDME, je kosmetický průmysl. I zde je možné extrahovat formaldehyd, který je v tomto odvětví využit zejména pro své dezinfekční a konzervační účinky. Díky GDME lze stanovit nejen volný formaldehyd, ale i sloučeniny, které jej uvolňují [77]. Po vlastní extrakci spojené s derivatizační reakcí s acetylacetone byla využita spektrofotometrická detekce při 412 nm. Ve vzorcích jako opalovací či pleťový krém, sprchový gel apod. bylo dosaženo limitu kvantifikace $6,60 \text{ mg kg}^{-1}$. Zajímavý a inovativní

přístup popsali Lamarca a jeho kolegové [78]. I zde byl stanoven formaldehyd v kosmetických a hygienických výrobcích pomocí GDME s derivatizační reakcí s acetylacetone. K detekci byl však užit pouze chytrý mobilní telefon. Po proběhlé derivatizační reakci byly extrakty vyfoceny, fotka byla převedena na RGB hodnoty (barva každého obrazového bodu je složena ze tří základních barev – červené (R z angl. red), zelené (G z angl. green) a modré (B z angl. blue)) a intenzita modrého kanálu byla vybrána jako analytická odezva.

2.2.2 Bezmembránový extrakční modul

V této práci byl poprvé použit bezmembránový extrakční modul (angl. membraneless extraction module, MLEM). V této variaci extrakční metody se již nepoužívá hydrofobní membrána pro oddělení prostoru vzorku a akceptačního roztoku. V teflonové trubičce s bočními otvory je umístěn běžný plastový laboratorní uzávěr, který slouží pro uchování AR. Zbytek aparatury je totožný s klasickým GDME modulem. Jedná se o 100ml laboratorní zásobní láhev a do jejího víčka byl vytvořen otvor, kde je umístěn samotný modul pro extrakci. Náčrtek MLEM aparatury je uveden na obr. 11.



Obrázek 11. Schéma MLEM extrakční aparatury.

Tato verze extrakce je taktéž vhodná jak pro pevné, tak i kapalně vzorky. Rozdílem v tomto uspořádání je, že analyt nemusí procházet membránou, avšak po zahřátí a uvolnění do plynné fáze je chemicky zadržen v AR nacházejícím se v laboratorním uzávěru, kde ve stejném momentu dochází k derivatizaci. Absence hydrofobní membrány může vést k vyšším výtěžkům extrakce, neboť v některých případech může samotná membrána působit jako bariéra pro přesun analytu do akceptačního roztoku. To taktéž činí pořizovací náklady na extrakční aparát ještě nižší, neboť cenu komerčně dostupných hydrofobních membrán nelze s cenou běžných

laboratorních uzávěrů srovnávat.

3 Experimentální část

3.1 Reagencie

Studovanou látkou byl formaldehyd (37 %, Sigma-Aldrich, Německo). Čerstvý zásobní roztok (o přibližné koncentraci $1,0 \text{ g l}^{-1}$) byl připraven každý týden a uchováván při $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Přesná koncentrace formaldehydu byla stanovena dle evropské normy [10]. Pracovní roztoky byly denně ředěny z takto připraveného zásobního roztoku.

Roztok acetylacetonu (99,5 %, Sigma-Aldrich, Německo) byl připraven převedením $25 \text{ } \mu\text{l}$ do 50ml odměrné baňky. Poté bylo přidáno 5 g octanu amonného ($> 98\%$, Sigma-Aldrich, Německo) a baňka byla doplněna po rysku ultračistou vodou. Takto připravený 0,05% roztok acetylacetonu byl uchováván v tmavé laboratorní láhvi při pokojové teplotě, aby se zabránilo fotodegradaci.

Pro přípravu všech roztoků a mytí laboratorního skla byla použita ultračistá voda ze systému Millipore Direct-Q 3UV s odporem $18,2 \text{ M}\Omega$ při $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

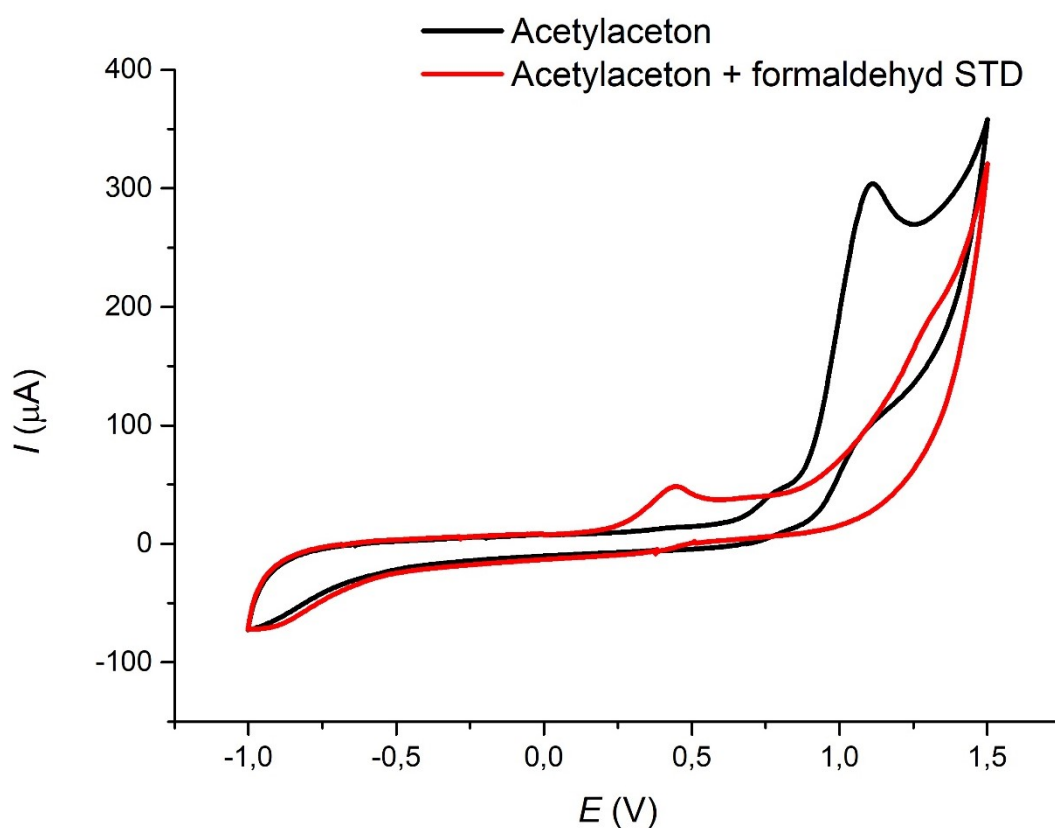
3.2 Instrumentace

Elektrochemická měření probíhala na potenciostatu PalmSens4 (PalmSense, Nizozemí). Pro záznam měření byl použit software PStace (verze 5.7.2001, PalmSense, Nizozemí), který pracoval v operačním systému Windows 10 (Microsoft Corporation, USA). Všechna měření probíhala v tříelektrodovém zapojení na sítotiskové uhlíkové elektrodě DRP-110 (Metrohm DropSens, Španělsko). Spektrofotometrická stanovení byla provedena na analyzátoru Shimadzu UV-3101PC (Shimadzu, Japonsko) s ovládacím programem UVProbe (verze 2.34, Shimadzu, Japonsko) v křemenných kyvetách s optickou dráhou 10 mm.

4 Výsledky a diskuze

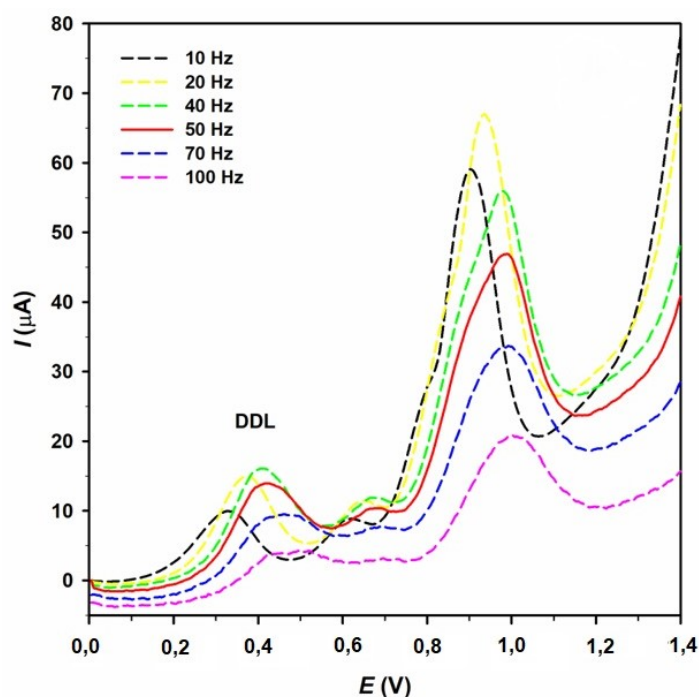
4.1 Vývoj elektrochemické metody pro stanovení DDL

Pro nepřímé stanovení formaldehydu byl vybrán acetylaceton [27] jako derivatizační činidlo, a to zejména proto, že je nevíce využíván v průmyslu, ale také pro svou selektivitu vůči formaldehydu. Byl připraven standardní roztok formaldehydu o koncentraci 500 mg l^{-1} . Tento standardní roztok byl smísen s 0,05% roztokem acetylacetonu připraveném v prostředí 0,2% octanu amonného. Tato směs byla derivatizována při 60°C po dobu 15 minut a touto reakcí byl připraven roztok DDL, který byl analyzován pomocí cyklická voltametrie. Získané voltamogramy jsou uvedeny na obr. 12.

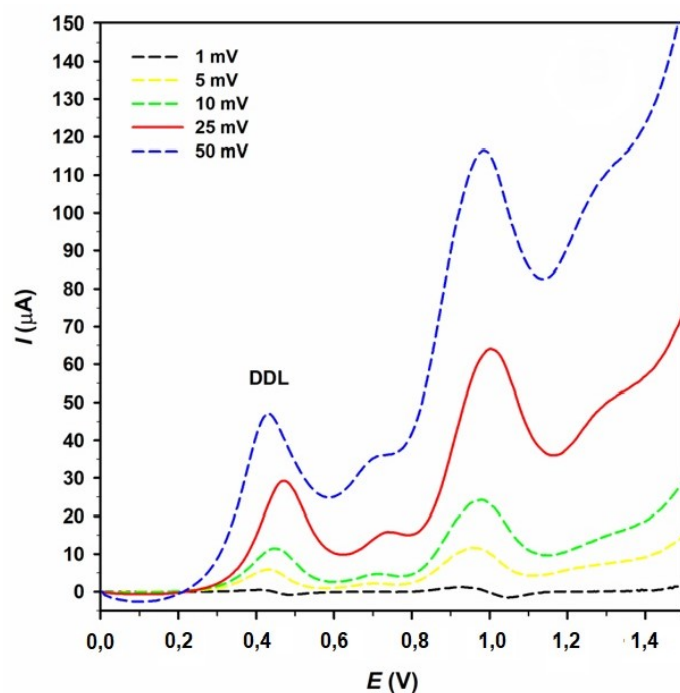


Obrázek 12. Cyklické voltamogramy zaznamenané na SPCE v roztoku acetylacetonu a DDL. Experimentální podmínky: Potenciálový rozsah $-1,0$ až $1,5$ V, polarizační rychlost 250 mV s^{-1} . Analyzovaný roztok byl připraven smísením standardního roztoku formaldehydu o koncentraci 500 mg l^{-1} s 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného.

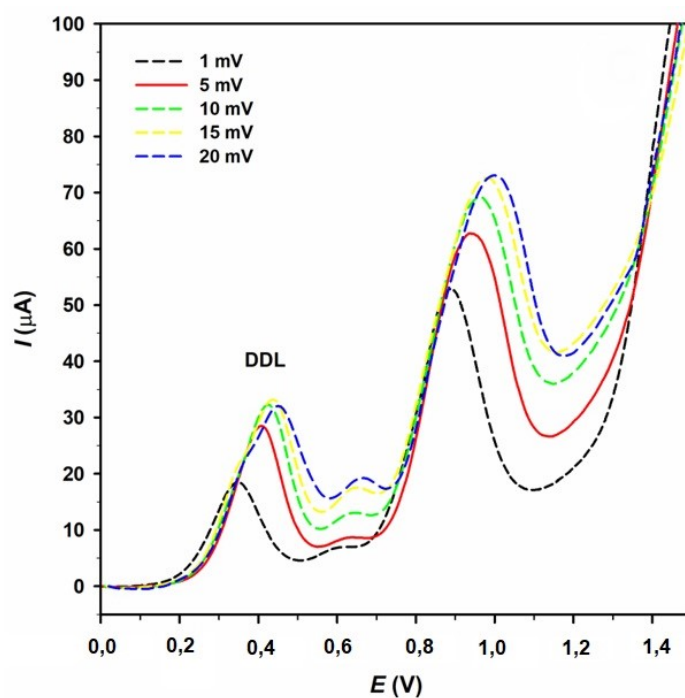
Z voltamogramů je patrné, že acetylaceton poskytuje oxidační pík při 1,0 V a DDL poskytuje oxidační pík při 0,4 V. Selektivní stanovení formaldehydu pomocí jeho derivatizačního produktu DDL je tedy možné při 0,4 V. Po potvrzení elektroaktivity DDL byla vytvořena voltametrická metoda pro nepřímé stanovení formaldehydu. Jako analytická technika byla vybrána SWV, zejména proto, že umožňuje rychlou kvantitativní analýzu s vysokou citlivostí [79]. Optimalizovány byly následující elektrochemické parametry: frekvence (v rozsahu 10–100 Hz), amplituda (v rozsahu 1–50 mV) a potenciálový krok (v rozsahu 1–20 mV). Všechna měření byla provedena v roztoku formaldehydu o koncentraci 15 mg l^{-1} derivatizovaném pomocí 0,05% roztoku acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Výsledky optimalizace jsou uvedeny na obr. 13–18. Při vybírání elektrochemických parametrů metody byl hledán kompromis mezi výškou a tvarem oxidačního píku DDL. Na základě těchto předpokladů byly vybrány následující parametry: frekvence 50 Hz, amplituda 25 mV a potenciálový krok 5 mV (rychlost skenu je tedy 250 mV s^{-1}). Ve voltamogramech je vybraný parametr vždy značen červenou barvou.



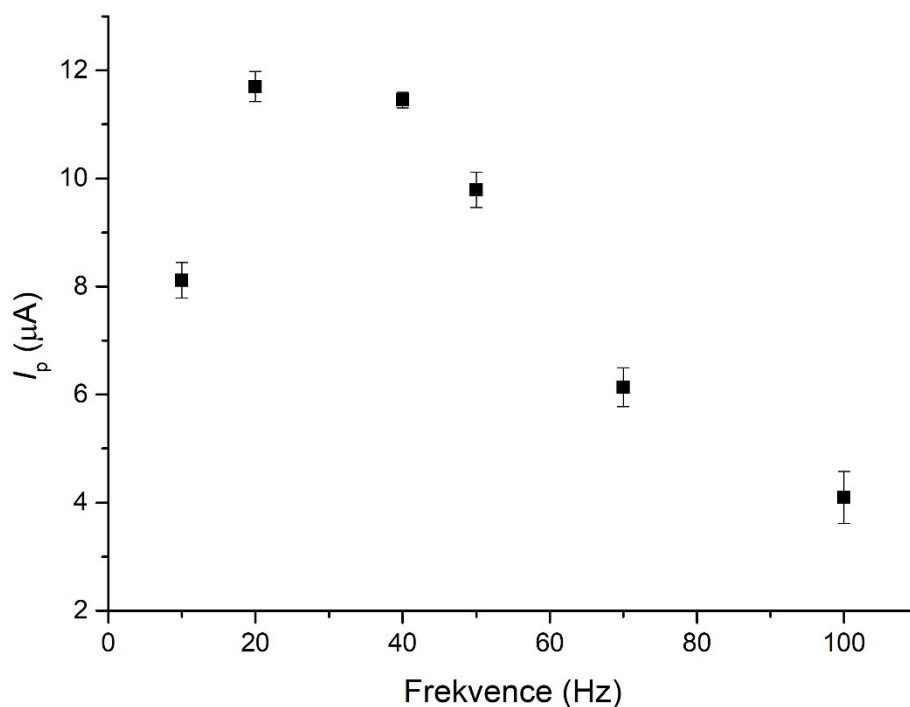
Obrázek 13. Optimalizace parametrů SWV: frekvence (10–100 Hz). Voltamogramy byly zaznamenány na SPCE při stanovení 15 mg l^{-1} roztoku formaldehydu po derivatizaci 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Pro stanovení byla použita amplituda 25 mV a krok 5 mV.



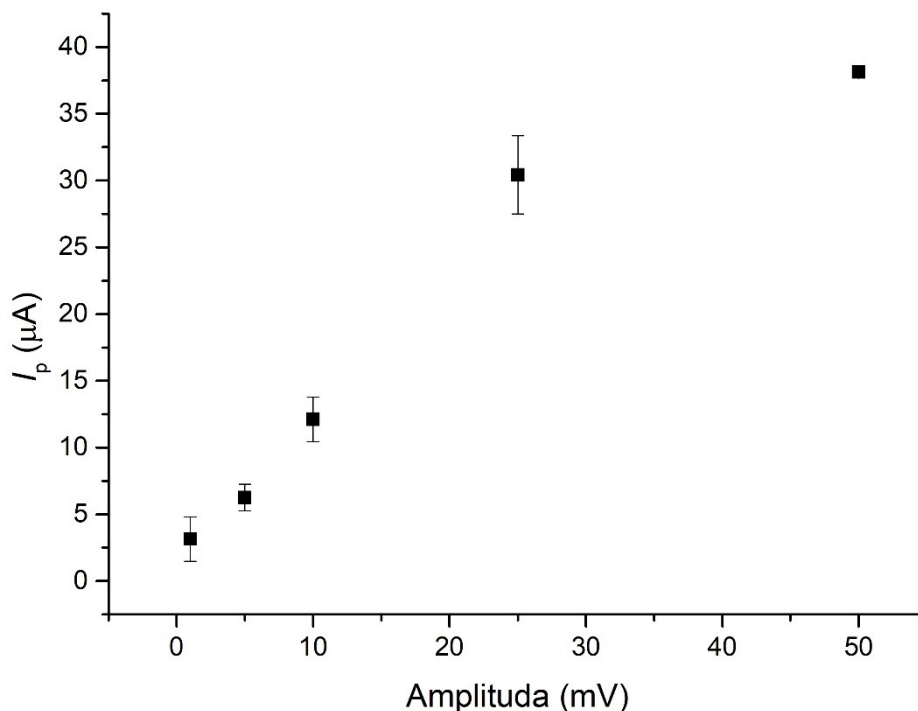
Obrázek 14. Optimalizace parametrů SWV: amplituda. Voltamogramy byly zaznamenány na SPCE při stanovení 15 mg l^{-1} roztoku formaldehydu po derivatizaci 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Pro stanovení byla použita frekvence 50 Hz a krok 5 mV.



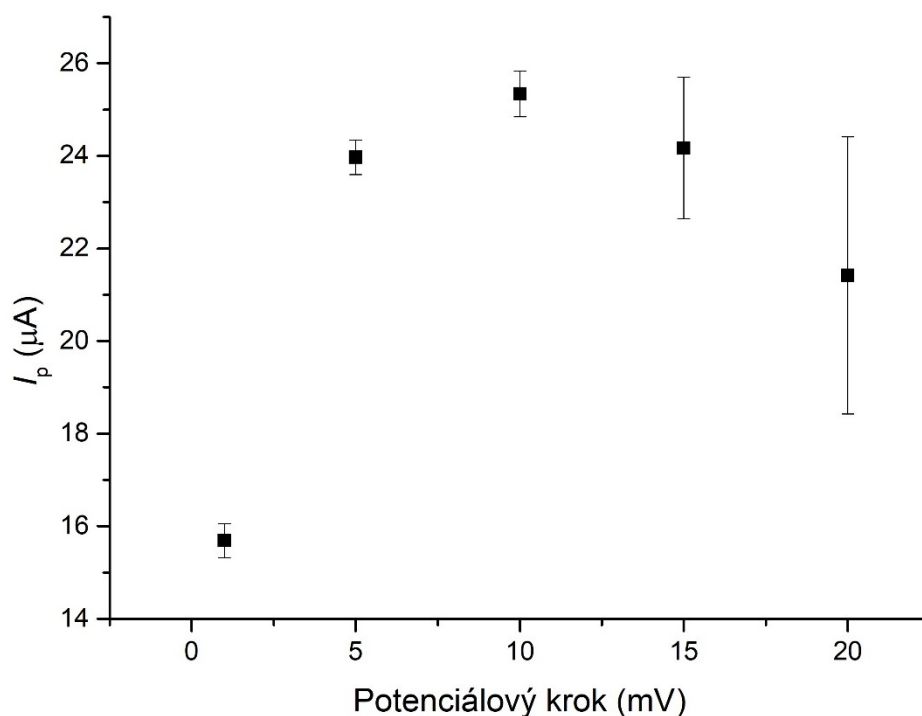
Obrázek 15. Optimalizace parametrů SWV: potenciálový krok. Voltamogramy byly zaznamenány na SPCE při stanovení 15 mg l^{-1} roztoku formaldehydu po derivatizaci 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Pro stanovení byla použita frekvence 50 Hz a amplituda 25 mV.



Obrázek 16. Závislost výšky píku na zvolené frekvenci. Výsledky získané na SPCE při stanovení 15 mg l^{-1} roztoku formaldehydu po derivatizaci 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Pro stanovení byla použita amplituda 25 mV a krok 5 mV, $n = 3$.



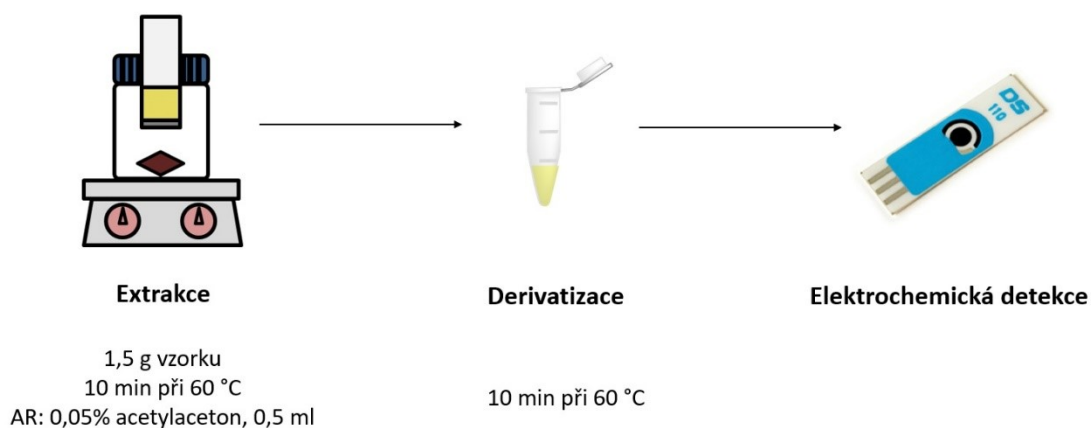
Obrázek 17. Závislost výšky píku na zvolené amplitudě. Výsledky získané na SPCE při stanovení 15 mg l^{-1} roztoku formaldehydu po derivatizaci 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Pro stanovení byla použita frekvence 50 Hz a krok 5 mV, $n = 3$.



Obrázek 18. Závislost výšky píku na zvoleném potenciálovém kroku. Výsledky získané na SPCE při stanovení 15 mg l^{-1} roztoku formaldehydu po derivatizaci 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Pro stanovení byla použita frekvence 50 Hz a amplituda 25 mV, $n = 3$.

4.2 Procedura extrakce

Podmínky extrakce byly převzaty z publikace [75], která se zabývá extrakcí formaldehydu ze stejné matrice, využívá však spektrofotometrické detekce. Postup vlastní extrakce je následující: 1) 1,5 g vzorku (rozměry přibližně $1,5 \times 1,5 \text{ cm}$) byl vložen do 100ml zásobní lahve; 2) zásobní lahev byla uzavřena víkem s MLEM modulem s již nasazeným laboratorním uzávěrem; 3) do laboratorního uzávěru bylo pipetováno 0,5 ml akceptačního roztoku (0,05% roztok acetylacetonu) a na modul byla nasazena zátka; 4) byla provedena extrakce při 60°C po dobu 10 minut; 5) po extrakci byl extrakt přenesen do mikrozkuhavky typu Eppendorf, ve které probíhala derivatizace při 60°C po dobu 10 minut; 6) po vychladnutí derivatizovaného extraktu byla provedena SWV stanovení na SPCE. Zjednodušené schéma extrakce je uvedeno na obr. 19.



Obrázek 19. Schéma procedury extrakce formaldehydu z dřevěných výrobků.

4.3 Kalibrační závislost

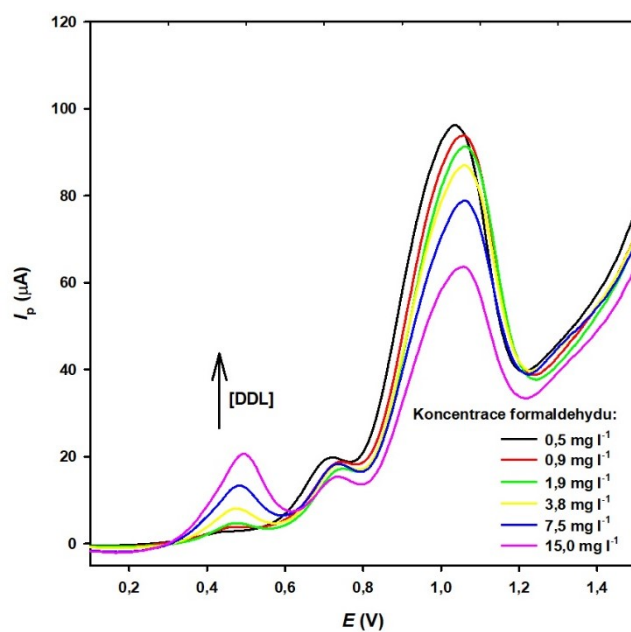
Po nalezení vhodných elektrochemických parametrů pro stanovení DDL byla zkonstruována kalibrační závislost výšky oxidačního píku DDL na koncentraci formaldehydu. Jako matrice byly využity korkové zátky, které jsou svým složením velmi podobné dřevěným výrobkům, avšak neobsahují formaldehyd.

Ke korkové zátce bylo postupně pipetováno 100 μl standardního roztoku formaldehydu o koncentracích 0,5; 0,9; 1,9; 3,8; 7,5 a 15 mg l^{-1} . Poté byla provedena extrakce a derivatizace. 60 μl derivatizovaných extraktů bylo použito pro SWV analýzu na SPCE. Získané voltamogramy a kalibrační závislost jsou uvedeny na obr. 20 a 21. Rovnice kalibrační přímky je uvedena v tab. 2. Pík při 0,4 V odpovídá oxidaci DDL, pík při 1,0 V odpovídá oxidaci nezreagovaného acetylacetonu.

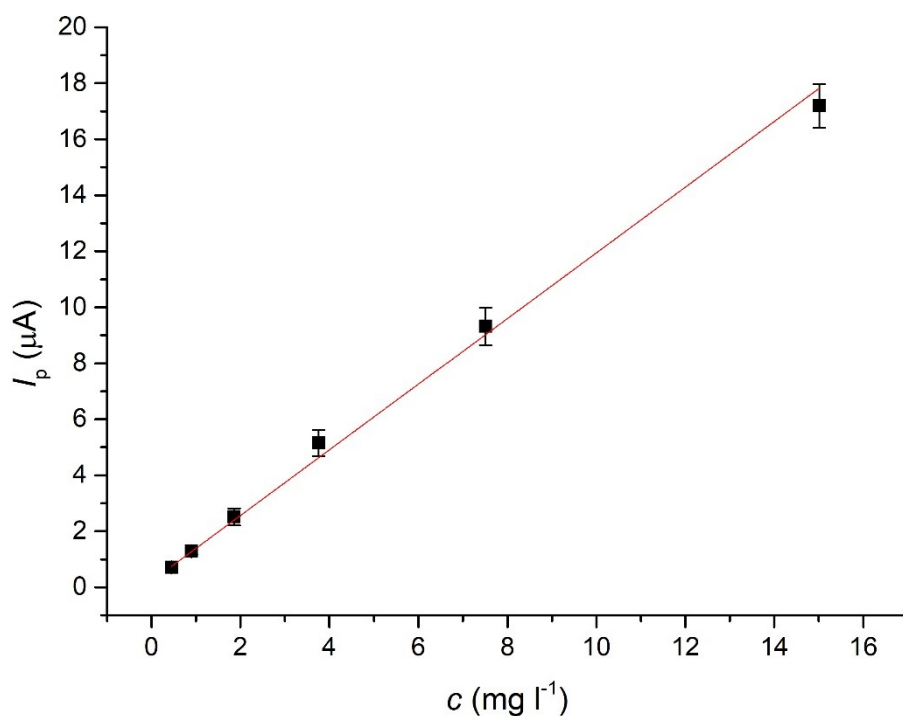
Ukázalo se, že vytvořená metoda poskytuje lineární odezvu v celém uvedeném rozsahu koncentrací.

Tabulka 2. Rovnice kalibrační přímky.

Směrnice [$\mu\text{A l mg}^{-1}$]	Úsek [μA]	r^2
1,29	0,2	0,997



Obrázek 20. Square-wave voltamogramy různých koncentrací DDL zaznamenané na SPCE v prostředí 0,2% octanu amonného (frekvence 50 Hz, amplituda 25 mV, potenciálový krok 5 mV).



Obrázek 21. Kalibrační závislost proudu píku na koncentraci DDL. SWV měření byla zaznamenaná na SCPE v prostředí 0,2% octanu amonného (frekvence 50 Hz, amplituda 25 mV, potenciálový krok 5 mV, $n = 3$).

4.4 Validační parametry metody

Ze získaných dat uvedených v kapitole 4.3 byl pomocí lineární regrese získán koeficient determinace r^2 , který činí 0,997. Dále byl spočten LOD a LOQ dle [80] jako trojnásobek, respektive desetinásobek směrodatné odchylky úseku kalibrační přímky podělený směrnici. Hodnota LOD činí $0,57 \text{ mg kg}^{-1}$ a hodnota LOQ je $1,89 \text{ mg kg}^{-1}$.

Také byly stanoveny hodnoty denní a mezidenní preciznosti. Denní preciznost byla spočtena jako směrodatná odchylka pěti replikovaných stanovení formaldehydu ve spikovaných korkových zátkách. Mezidenní preciznost byla spočtena jako směrodatná odchylka pěti replikovaných stanovení formaldehydu ve spikovaných korkových zátkách ve třech různých dnech. Hodnoty precizností byly popsány ve třech různých koncentračních úrovních přídatku standardního roztoku formaldehydu. Jednalo se o přídatek $100 \mu\text{l}$ standardního roztoku formaldehydu o koncentracích 100 mg l^{-1} , 200 mg l^{-1} a 300 mg l^{-1} . Hodnoty relativních standardních odchylek pro všechny tři koncentrační úrovně denní i mezidenní preciznosti nedosahují 10 %. Validační parametry jsou uvedeny v tab. 3.

Tabulka 3. Validační parametry vytvořené metody pro stanovení formaldehydu v dřevěných výrobcích.

	r^2	0,997
	$LOD \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$	0,57
	$LOQ \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$	1,89
Denní preciznost	100 mg l^{-1}	7,9 %
	200 mg l^{-1}	4,4 %
	300 mg l^{-1}	6,1 %
Mezidenní preciznost	100 mg l^{-1}	9,5 %
	200 mg l^{-1}	9,4 %
	300 mg l^{-1}	9,5 %

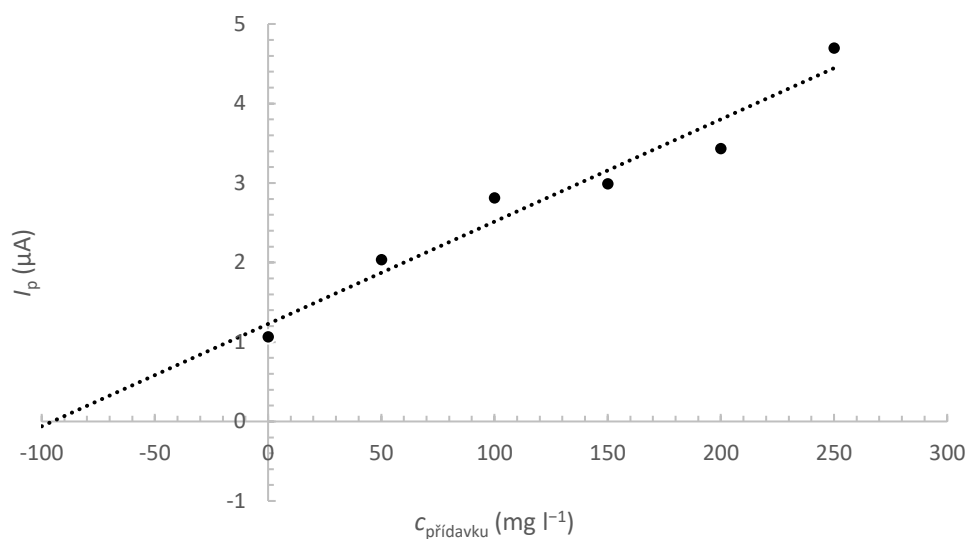
4.5 Stanovení obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích

Po vyvinutí analytické metody a konstrukci kalibrační závislosti byl stanoven obsah formaldehydu v sedmi dřevěných výrobcích. Jednalo se o různé druhy dřevotřískových desek. Vzorky byly nařezány na požadované rozměry uvedené v kap. 4.2. Jako metoda kvantifikace byla vybrána metoda standardního přídatku. Do extrakční aparatury bylo pipetováno $100 \mu\text{l}$ standardního roztoku formaldehydu o následujících koncentracích: 0, 50, 100, 150, 200 a 250 mg l^{-1} . Poté byla provedena extrakční procedura s následnou elektrochemickou detekcí.

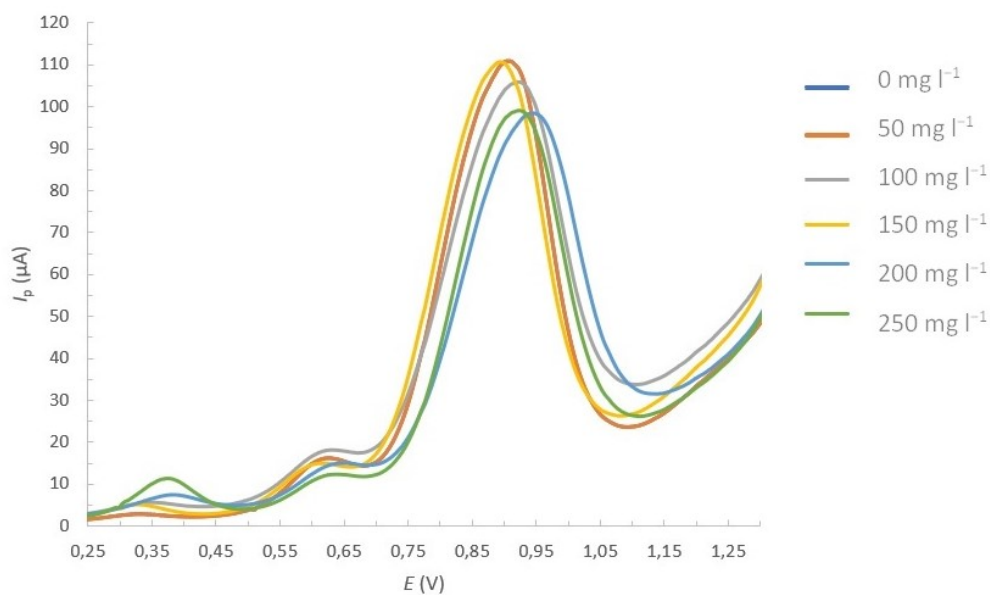
Získané výsledky jsou uvedeny v tab. 4, uvedené koncentrace byly přepočteny na hmotnost vzorku. Zaznamenané voltamogramy a závislost výšky píku na koncentraci standardního přídatku uvádím na obr. 22 a 23.

Tabulka 4. Obsah formaldehydu v dřevěných výrobcích stanovených pomocí MLEM-SPCE; ke kvantifikaci byla použita metoda standardního přídatku.

Vzorek	$c_{\text{formaldehyd}} (\text{mg kg}^{-1})$	Směrodatná odchylka
		(mg kg^{-1})
1	8,31	0,80
2	4,24	0,54
3	10,67	0,82
4	3,51	0,19
5	3,46	1,00
6	5,18	0,82
7	11,60	2,03



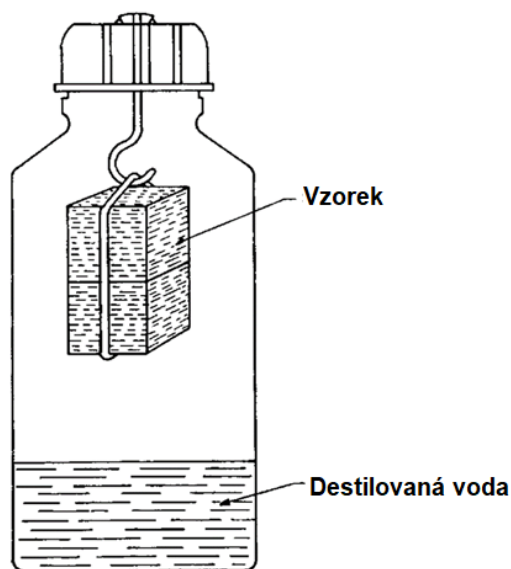
Obrázek 22. Závislost výšky píku na koncentraci standardního přídatku formaldehydu po derivatizaci s 0,05% roztokem acetylacetonu v prostředí 0,2% octanu amonného. Vlastní měření probíhalo na sítotiskové uhlíkové elektrodě (frekvence 50 Hz, amplituda 25 mV a potenciálový krok 5 mV).



Obrázek 23. Voltamogramy zaznamenané na sítotiskové uhlíkové elektrodě metodou SWV (frekvence 50 Hz, amplituda 25 mV a potenciálový krok 5 mV) v prostředí 0,2% octanu amonného při stanovení vzorku č. 4 metodou standardního přídavku.

4.6 Porovnání s metodou EN 717-3

K porovnání výsledků získaných pomocí metody MLEM-SPCE byla užita evropská norma EN 717-3. Vzorek o hmotnosti asi 20 g je umístěn do lahve s 50 ml destilované vody, jejíž náčrt je uveden na obr. 24.



Obrázek 24. Láhev užívaná při extrakci formaldehydu dle metody EN 717-3 [81].

Láhev se vzorkem je poté umístěna po dobu tří hodin do termostatu, který je vyhřátý na 40 °C. Poté je láhev z termostatu vyjmuta a vyčká se, až voda s absorbovaným formaldehydem vychladne na laboratorní teplotu. Poté je odebrán alikvót 10 ml a smísen s roztokem 0,05% acetylacetonu a 0,2% octanu amonného. Extrakt je derivatizován po dobu 15 minut při 60 °C. Poté je derivatizovaný extrakt uložen do temna po dobu 1 hodiny. Následuje spektrofotometrická detekce při 412 nm. Tato metoda zahrnuje také stanovení obsahu vody dle EN 312 [82]. Obsah vody ve všech vzorcích se drží pod 8 %. Porovnání výsledků získaných metodou MLEM-SPCE a EN 717-3 je uvedeno v tab. 5.

Tabulka 5. Porovnání výsledků obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích stanovených pomocí MLEM-SPCE a EN 717-3.

Vzorek	$C_{\text{formaldehyd}} \text{ (mg kg}^{-1}\text{)}$		
	MLEM-SPCE	EN 717-3	Výtěžnost (%)
1	8,32 ± 0,80	7,42 ± 0,18	112,13
2	4,24 ± 0,54	4,53 ± 0,04	93,60
3	10,67 ± 0,82	10,23 ± 0,14	104,30
4	3,51 ± 0,19	4,29 ± 0,08	81,82
5	3,46 ± 1,01	3,53 ± 0,04	98,02
6	5,18 ± 0,82	4,85 ± 0,18	106,80
7	11,60 ± 2,04	12,17 ± 0,08	95,32

Na získané výsledky byl aplikován Studentův *t*-test na hladině významnosti 0,05. Mezi metodami nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly v rámci středních hodnot získaných výsledných koncentrací formaldehydu.

Nespornou výhodou nově vyvinuté metody pro stanovení formaldehydu v dřevěných výrobcích je významné zkrácení celkového času analýzy. Celkový čas analýzy pomocí metody EN 717-3 činí 255 minut, kdežto při použití metody MLEM-SPCE činí pouze 20 minut. Přehledné srovnání obou metod, společně se třetí [75], která se taktéž věnuje stanovení formaldehydu v dřevěných výrobcích, je uvedeno v tab. 6.

Tabulka 6. Porovnání parametrů metod MLEM-SPCE, GDME-UV-VIS a EN 717-3 pro stanovení obsahu formaldehydu v dřevěných výrobcích.

	MLEM-SPCE	GDME-UV-VIS	EN 717-3
Hmotnost vzorku (g)	1,5	1	20
Objem reagensů (ml)	0,5	0,5	30
Čas extrakce (min)	10	30	180
Podmínky derivatizace	10 min při 60 °C	60 min v temnu	15 min při 60 °C
Celkový čas analýzy (min)	20	90	255

5 Závěr

V této práci byla vyvinuta extrakčně-voltametrická metoda pro nepřímé stanovení formaldehydu v dřevěných výrobcích. Jako derivatizační činidlo byl vybrán acetylaceton. Produkt derivatizace formaldehydu s acetylacetone – 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin (DDL) – poskytuje při 0,4 V oxidační pík, jenž byl využit při vlastním stanovení.

Vhodné extrakční podmínky jsou následující: 0,5 g vzorku je extrahováno po dobu 10 minut při 60 °C, jako akceptační roztok byl zvolen 0,05% acetylaceton o objemu 0,5 ml. Po proběhlé extrakci je extrakt derivatizován po dobu 10 minut při 60 °C. Poté následuje elektrochemická detekce na nemodifikovaných sítotiskových uhlíkových elektrodách.

Square-wave voltametrie byla vybrána jako technika vhodná pro citlivé stanovení DDL. Byly optimalizovány následující parametry: frekvence, amplituda a potenciálový krok. Jako vhodná frekvence pro stanovení byla vybrána hodnota 50 Hz, vhodná amplituda 25 mV a pro potenciálový krok byla zvolena hodnota 5 mV. Pro jedno samotné stanovení je třeba pouze 60 µl derivatizovaného extraktu.

Následně bylo za uvedených optimalizovaných podmínkách provedeno stanovení obsahu formaldehydu v 7 dřevěných výrobcích. Výsledky stanovení uvádím v tab. 4, hodnoty se pohybovaly v rozmezí 3,5–12 mg kg⁻¹. Pro ověření správnosti výsledků byl obsah formaldehydu stanoven také pomocí oficiální evropské normy EN 717-3. Na oba soubory výsledků byl aplikován Studentův *t*-test na hladině významnosti 0,05. Mezi výsledky nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly.

Hlavní výhodou nového inovativního přístupu je významná redukce celkového času analýzy, který je v porovnání s oficiální evropskou normou redukován více než desetkrát. Následná elektrochemická detekce na nemodifikovaných sítotiskových uhlíkových elektrodách nabízí jednoduché, nenáročné řešení vhodné pro rutinní analýzy, které je možné provádět rovněž *in situ*.

Literatura

- [1] Gorsjean D.: Formaldehyde and Other Carbonyls in Los Angeles Ambient Air, *Enviromental Science and Technology*, **16**, (1982) 254-262.
- [2] Jones A. P.: Indoor Air Quality and Health, *Atmospheric Environment*, **33**, (1999) 4535-4564.
- [3] International Agency for Research on Cancer (IARC), Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, **88**, Lyon, (2006).
- [4] Salthammer T.: The Formaldehyde Dilemma, *International Journal of Hygiene and Enviromental Health*, **4**, (2015) 433-436.
- [5] He R.: Formaldehyde and Cognition. Springer, Dordrecht, 2017.
- [6] Dorokhov Y. L., Shindyapina A. V., Sheshukova E. V. a Komarova T. V.: Metabolic Methanol: Molecular Pathways and Physiological Roles, *Physiology Review*, **95**, (2015) 603-644.
- [7] Marhold J.: Přehled průmyslové toxikologie. Organické látky, Avicenum, Praha, 1986.
- [8] EN 717-1: Wood-Based Panels – Determination of Formaldehyde Release – Part 1: Formaldehyde Emission by the Chamber Method (2004).
- [9] EN 717-2: Wood-Based Panels – Determination of Formaldehyde Release – Part 2: Formaldehyde Release by the Gas Analysis Method (1994).
- [10] EN 717-3: Wood-Based Panels – Determination of Formaldehyde Release – Part 3: Formaldehyde Release by the Flask Method (1996).
- [11] EN 120: Wood-Based Panels – Determination of Formaldehyde Content – Extraction Method Called Perforator Method (1993).
- [12] Risholm-Sundman M., Larsen A., Vestin E. a Weibull A.: Formaldehyde Emission – Comparison of Different Standard Methods, *Atmospheric Enviroment*, **41**, (2007) 3193-3202.
- [13] Yu C. W. F. a Crump D. R.: Testing for Formaldehyde Emission from Wood-Based Products – A Review, *Indoor and Built Enviroment*, **8**, (1999) 280-286.
- [14] <https://m.haidaequipment.com/formaldehyde-test-chamber-5200281.html> (stav ke dni 6. června 2020).
- [15] <https://fliphtml5.com/kycl/agsw/basic> (stav ke dni 6. června 2020).
- [16] https://www.researchgate.net/figure/Sample-set-up-for-modified-EN-717-3-method-O-NORM-1996_fig2_273661071 (stav ke dni 6. června 2020).
- [17] <https://www.wenk->

labtec.com/2029306664/1/AD223/c29uMDIyNjk=/Landgraf%20HLL%20son02269%20Wenk.html (stav ke dni 6. června 2020).

- [18] Rani G. S.: Polarographic Determination of Formaldehyde, Acetaldehyd and Propionaldehyde by Calibration Method, *International Research Journal of Science and Engineering*, **5**, (2017) 1-10.
- [19] Ladanyi E. a Standler K.: Differential Pulse-Polarographic Determination of Formaldehyde in Lung Surfactant, *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*, **15**, (1986) 89-93.
- [20] Norkus E., Vaškelis A. a Pauliukaite R.: Polarographic Determination of Formaldehyde According to the Anodic Oxidation Wave in Alkaline Solutions, *Electroanalysis*, **11**, (1999) 447-449.
- [21] Bełtowska-Brzezinska M.: Electrochemical Oxidation of Formaldehyde on Gold and Silver, *Electrochimica Acta*, **30**, (1985) 1193-1198.
- [22] Sibille S., Moiroux J. a Marot J.: Electrochemical Oxidation of Aldehydes in Aqueous Solution. I. Oxidation of Aqueous Basic Solutions of Aldehydes at Gold and Platinum Electrodes, *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, **88**, (1978) 105-121.
- [23] Boumya W., Hammani H., Laghrib F., Lahrich S., Farahi A., Achak M., Makesse M. a El Mhammedi M. A.: Electrochemical Study of 2,4-Dinitrophenylhydrazine as Derivatization Reagent and Aldehydes at Carbon Glassy Electrode, *Electroanalysis*, **29**, (2017) 1700-1711.
- [24] Rodgher V. S., Okumura L. L., Saczk A. A., Stradiotto N. R. a Zanoni M. V. B.: Electroanalysis and Determination of Acetaldehyde in Fuel Ethanol Using the Reaction with 2,4-Dinitrophenylhydrazine, *Journal of Analytical Chemistry*, **61**, (2006) 889-895.
- [25] Zhang Z., Zjang H. a He G.: Preconcentration with Membrane Cell and Adsorptive Polarographic Determination of Formaldehyde in Air, *Talanta*, **57**, (2002) 317-322.
- [26] Madavie M. G. Y. a Kumal N. M.: Development of a Paper-Based Approach for the Detection of Carbonyl Compounds in Indoor Air Samples, *Sri Lankan Journal of Biology*, **2**, (2017) 1-11.
- [27] Pinto G. F., Rocha D. P., Richter E. M., Muñoz R. A. A. a Silva S. G.: Indirect Determination of Formaldehyde by Square-Wave Voltametry Based on the Electrochemical Oxidation of 3,5-Diacetyl-1,4,-dihydrolutidine Using an Unmodified Glassy-Carbon Electrode, *Talanta*, **198**, (2019) 237-241.

- [28] Nash T.: The Colorimetric Estimation of Formaldehyde by Means of the Hantzsch Reaction, *Biochemical Journal*, **55**, (1953) 416-421.
- [29] Brandão P. F., Ramos R. M. a Rodrigues J. A.: GDME-Based Methodology for the Determination of Free Formaldehyde in Cosmetics and Hygiene Products Containing Formaldehyde Releasers, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410**, (2018) 6873-6880.
- [30] Fung K. a Grosjean D.: Determination of Nanogram Amounts of Carbonyl as 2,4-Dinitrophenylhydrazones by High-Performance Liquid Chromatography, *Analytical Chemistry*, **53**, (1981) 168-171.
- [31] Ho S. S. H. a Yu J. Z.: Determination of Airborne Carbonyls: Comparison of a Thermal Desorption/GC Method with the Standard DNPH/HPLC Method, *Environmental Science and Technology*, **38**, (2004) 862-870.
- [32] Koziel J., Jia M., Khaled A., Noah J. a Pawliszyn J.: Field Air Analysis with SPME Device, *Analytica Chimica Acta*, **400**, (1999) (153-162).
- [33] Zhang D., Zhang J., Li M., Aimaiti G., Tuersun G., Ye J. a Chu Q.: A Novel Miniaturised Electrophoretic Method for Determining Formaldehyde and Acetaldehyde in Food Using 2-Thiobarbituric Acid Derivatisation, *Food Chemistry*, **129**, (2011) 206-212.
- [34] Herschkovitz Y., Eshkenazi I., Campbell C. E., Rishpon J.: An Electrochemical Biosensor for Formaldehyde, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **491**, (2000) 182-187.
- [35] Kelly T. J. a Fortune C. R.: Continuous Monitoring of Gaseous Formaldehyde Using an Improved Fluorescence Approach, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **54**, (1994) 249-263.
- [36] Tuazon E. C., Graham R. A., Winer A. M., Easton R. R., Pitts J. N. a Hants P. L.: A Kilometer Pathlength Fourier-Transform Infrared System for the Study of Trace Pollutants in Ambient and Synthetic Atmospheres, *Atmospheric Environment*, **12**, (1978) 865-875.
- [37] Li N., Fan Y., Shi Y., Xiang Q., Wang X. a Xu J.: A Low Temperature Formaldehyde Gas Sensor Based on Hierarchical SnO/SnO₂ Nano-Flowers Assembled from Ultrathin Nanosheets: Synthesis, Sensing Performance and Mechanism, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **294**, (2019) 106-115.
- [38] Hu J., Wang T., Wang Y., Huang D., He G., Han Y., Hu N., Su Y., Zhou Z., Zhang Y. a Yang Z.: Enhanced Formaldehyde Detection Based on Ni Doping of SnO₂ Nanoparticles

- by One-Step Synthesis, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **263**, (2018) 120-128.
- [39] Lin Q., Fan Y., Gong G., Mao P., Wang J., Guan X., Liu J., Zhanh Y., Yao H. a Wei T.: Ultrasensitive Detection of Formaldehyde in Gas and Solutions by a Catalyst Preplaced Sensor Based on a Pillar[5]arene Derivative, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, **6**, (2018) 8775-8781.
- [40] Ye Z., Tai H., Xie T., Yuan Z., Liu C. a Jiang Y.: Room Temperature Formaldehyde Sensor with Enhanced Performance Based on Reduced Graphene Oxide/Titanium Dioxide, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **223**, (2016) 149-156.
- [41] Li X., Li X., Wang J. a Lin S.: Highly Sensitive and Selective Room-Temperature Formaldehyde Sensors Using Hollow TiO₂ Microspheres, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **219**, (2015) 158-163.
- [42] Li Y., Chen N., Deng D., Xing X., Xiao X. a Wang Y.: Formaldehyde Detection: SnO₂ Microspheres for Formaldehyde Gas Sensor with High Sensitivity, Fast Response/Recovery and Good Selectivity, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **238**, (2017) 264-273.
- [43] Mishra R. K., Murali G., Kim T., Kim J. H., Lim Y. J., Kim B., Sahay P. P. a Lee S. H.: Nanocube In₂O₃@RGO Heterostructure Based Gas Sensor for Acetone and Formaldehyde Detection, *RSC Advances*, **7**, (2017) 38714-38724.
- [44] Tang Y., Kong X., Xu A., Dong B. a Lin W.: Development of a Two-Photon Fluorescent Probe for Imaging of Endogenous Formaldehyde in Living Tissues, *Angewandte Chemie International Edition*, **55**, (2016) 3356-3359.
- [45] Chang X., Wang Z., Qi Y., Kang R., Cui X., Shang C., Liu K. a Fang Y.: Dynamic Chemistry-Based Sensing: A Molecular System for Detection of Saccharide, Formaldehyde, and the Silver Ion, *Analytical Chemistry*, **89**, (2017) 9360-9367.
- [46] Shi D., Wei L., Wang J., Zhao J., Chen C., Xu D., Geng H. a Zhang Y.: Solid Organic Acid Tetrafluorohydroquinone Functionalized Single-Walled Carbon Nanotube Chemiresistive Sensors for Highly Sensitive and Selective Formaldehyde Detection, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **177**, (2013) 370-375.
- [47] Bo Z., Yuan M., Mao S., Chen X., Yan J. a Cen K.: Decoration of Vertical Graphene with Tin Dioxide Nanoparticles for Highly Sensitive Room Temperature Formaldehyde Sensing, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **256**, (2018) 1011-1020.
- [48] He L., Yang X., Ren M., Kong X., Liu Y. a Lin W.: An Ultra-Fast Illuminating Fluorescent Probe for Monitoring Formaldehyde in Living Cells, Shiitake Mushrooms

- and Indoors, *Chemical Communications*, **52**, (2016) 9582-9585.
- [49] Xie X., Tang F., Shangguan X., Che S., Niu J., Xiao Y., Wang X. a Tang B.: Two-Photon Imaging of Formaldehyde in Live Cells and Animals Utilizing a Lysosome-Targetable and Acidic pH-Activatable Fluorescent Probe, *Chemistry Communications*, **53**, (2017) 6520-6523.
- [50] Chen X., Zhu X., Dong Y., Zhang W. a Bai L.: Formaldehyde Sensing Properties of SnO-Graphene Composite Prepared via Hydrothermal Method, *Journal of Materials Science and Technology*, **31**, (2015) 913-917.
- [51] Lee Y. H., Tang Y., Verwilt P., Lin W. a Kim J. S.: A Biotin-Guided Formaldehyde Sensor Selectively Detecting Endogenous Concentrations in Cancerous Cells and Tissues, *Chemistry Communications*, **52**, (2016) 11247-11250.
- [52] Li J., Wang Q., Yuan L., Wu Y., Hu X., Zhang X. a Tan W.: A Two-Photon Fluorescent Probe for Bio-Imaging of Formaldehyde in Living Cells and Tissues, *Analyst*, **141**, (2016) 3395-3302.
- [53] Sayed S. E., Pascual L., Licchelli M., Martínez-Mánez R., Gil S., Costero A. M. a Sancenón F.: Chromogenic Detection of Aqueous Formaldehyde Using Functionalized Silica Nanoparticles, *ACS Applied Materials and Interfaces*, **8**, (2016) 14318-14322.
- [54] Long H., Harley-Trochimczyk A., Cheng S., Hu H., Chi W. S., Rao A., Carraro C., Shi T., Tang Z. a Maboudian R.: Nanowire-Assembled Hierarchical ZnCo₂O₄ Microstructure Integrated with a Low-Power Microheater for Highly Sensitive Formaldehyde Detection, *ACS Applied Materials and Interfaces*, **8**, (2016) 31764-31771.
- [55] Chen H., Hu J., Li G., Gao Q., Wei C. a Zou X.: Porous Ga-In Bimetallic Oxide Nanofibers with Controllable Structures for Ultrasensitive and Selective Detection of Formaldehyde, *ACS Applied Materials and Interfaces*, **9**, (2017) 4692-4700.
- [56] Roth A., Li H., Anorma C. a Chan J.: A Reaction-Based Fluorescent Probe for Imaging of Formaldehyde in Living Cells, *Journal of American Chemical Society*, **137**, (2015), 10890-10893.
- [57] Pacheco J. G., Valente I. M., Gonçalves L. M., Rodrigues J. A. a Barros A. A.: Gas-Diffusion Microextraction, *Journal of Separation Science*, **33**, (2010) 3209-3212.
- [58] Manuel M. a Frenzel W.: Automated Membrane-Based Sampling and Sample Preparation Exploiting Flow-Injection Analysis, *Trends in Analytical Chemistry*, **23**, (2004) 624-636.
- [59] Lord H. a Pawliszyn J.: Microextraction of Drugs, *Journal od Chromatography A*, **902**, (2000) 17-63.

- [60] Stalikas C. D. a Fiamehos Y. C.: Microextraction Combined with Derivatization, *Trends in Analytical Chemistry*, **27**, (2008) 533-542.
- [61] Gonçalves L. M., Magalhães P. J., Valente I. M., Pacheco J. G., Dostálek P., Sýkora D., Rodrigues J. A. a Barros A. A.: Analysis of Aldehydes in Beer by Gas-Diffusion Microextraction: Characterization by High-Performance Liquid Chromatography–Diode-Array Detection–Atmospheric Pressure Chemical Ionization-Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, **1217**, (2010) 3717-3722.
- [62] Ramos R. M., Brandão P. F., Gonçalves L. M., Vyskočil V. a Rodrigues J. A.: Electrochemical Sensing of Total Sulphites in Beer Using Non-Modified Screen-Printed Carbon Electrodes, *Journal of the Institute of Brewing*, **123**, (2017) 45-48.
- [63] Ramos R. M., Gonçalves L. M., Vyskočil V. a Rodrigues J. A.: Free Sulphite Determination in Wine Using Screen-Printed Carbon Electrodes with Prior Gas-Diffusion Microextraction, *Electrochemistry Communications*, **63**, (2016) 52-55.
- [64] Valente I. M., Santos C. M., Gonçalves L. M., Rodrigues J. A. a Barros A. A.: Application of Gas-Diffusion Microextraction for High-Performance Liquid Chromatographic Analysis of Aliphatic Amines in Fermented Beverages, *Analytical Methods*, **4**, (2012) 2569-2573.
- [65] Hayasaka Y. a Bartowsky E. J.: Analysis of Diacetyl in Wine Using Solid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **47**, (1999) 612-617.
- [66] Ramos R. M., Pacheco J. G., Gonçalves L. M., Valente I. M., Rodrigues J. A. a Barros A. A.: Determination of Free and Total Diacetyl in Wine by HPLC-UV Using Gas-Diffusion Microextraction and Pre-Column Derivatization, *Food Control*, **24**, (2012) 220-224.
- [67] Ramos R. M., Gonçalves L. M., Vyskočil V. a Rodrigues J. A.: Voltametric Determination of Trace Amounts of Diacetyl at a Mercury Meniscus Modified Silver Solid Amalgam Electrode Following Gas-Diffusion Microextraction, *Talanta*, **169**, (2017) 203-208.
- [68] Santos C. M., Valente I. M., Gonçalves L. M. a Rodrigues J. A.: Chromatographic Analysis of Methylglyoxal and Other α -Dicarbonyls Using Gas-Diffusion Microextraction, *Analyst*, **138**, (2013) 7233-7237.
- [69] Ferreira R. C., Ramos R. M., Gonçalves L. M., Almeida P. J. a Rodrigues J. A.: Application of Gas-Diffusion Microextraction to Solid Samples Using the

- Chromatographic Determination of α -Diketones in Bread as a Case Study, *Analyst*, **140**, (2015) 3648-3653.
- [70] Shultheiss J., Jensen D. a Galensa R.: Determination of Aldehydes in Food by High-Performance Liquid Chromatography with Biosensor Coupling and Micromembrane Suppressors, *Journal of Chromatography A*, **880**, (2000) 233-242.
- [71] Lima L. F., Brandão P. F., Fonegatti T. A., Ramos R. M., Gonçalves L. M., Cardoso A. A., Pereira E. A. a Rodrigues J. A.: 4-Hydrazinobenzoic Acid as a Derivatizing Agent for Aldehyde Analysis by HPLC-UV and CE-DAD, *Talanta*, **187**, (2018) 113-119.
- [72] Cruz M. P., Valente I. M., Gonçalves L. M., Rodrigues J. A. a Barros A. A.: Application of Gas-diffusion Microextraction to the Analysis of Free and Bound Acetaldehyde in Wines by HPLC-UV and Characterization of the Extracted Compounds by MS/MS Detection, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **403**, (2012) 1031-1037.
- [73] Custodio-Mendoza J. A., Valente I. M., Ramos R. M., Lorenzo R. A., Carro A. M. a Rodrigues J. A.: Analysis of Free Malondialdehyde in Edible Oils Using Gas-Diffusion Microextraction, *Journal of Food Composition and Analysis*, **82**, (2019) 1-8.
- [74] Cordeiro L., Valente I. M., Santos J. R. a Rodrigues J. A.: Qualitative Carbonyl Profile in Coffee Beans Through GDME-HPLC-DAD-MS/MS for Coffee Preliminary Characterization, *Food Research International*, **107**, (2018) 536-534.
- [75] Brandão P. F., Ramos R. M., Valente I. M., Almeida P. J., Carro A. M., Lorenzo R. A. a Rodrigues J. A.: Gas-Diffusion Microextraction Coupled with Spectrophotometry for the Determination of Formaldehyde in Cork Agglomerates, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **409**, (2017) 2885-2892.
- [76] Brandão P. F., Ramos R. M., Almeida P. J. a Rodrigues J. A.: Determination of Carbonyl Compounds in Cork Agglomerates by GDME-HPLC-UV: Identification of the Extracted Compounds by HPLC-MS/MS, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **65**, (2017) 1037-1042.
- [77] Brandão P. F., Ramos R. M. a Rodrigues J. A.: GDME-Based Methodology for the Determination of Free Formaldehyde in Cosmetics and Hygiene Products Containing Formaldehyde Releasers, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410**, (2018) 6873-6880.
- [78] Lamarca R. S., da Costa Luchiani N., Bonjorno A. F., Filho J. P., Cardoso A. A. a de Lima Gomes P. C. F.: Determination of Formaldehyde in Cosmetic Products Using Gas-Diffusion Microextraction Coupled with a Smartphone Reader, *Analytical Methods*, **11**, (2019) 3697-3705.

- [79] de A. Pedrosa V., Codognoto L. a Avaca L. A.: Electroanalytical Determination of 4-Nitrophenol by Square Wave Voltammetry on Diamond Electrodes, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **14**, (2003) 530-535.
- [80] Miller J. N. a Miller J. C.: Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 6. vydání, Pearson Education, Londýn (2010).
- [81] https://www.researchgate.net/figure/Abb-1-500-ml-PE-Weithalsflasche-mit-50-ml-destilliertem-Wasser-und-Probenmaterial_fig1_257325879 (stav ke dni 11. června 2020).
- [82] EN 312: Particleboards. Specifications (2010).